

Année 1939

THÈSE

N°.....

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PRÉSENTÉE PAR

Maurice PAYET

Né le 30 Avril 1908, à MAROANTSETRA (Madagascar)

/ Ancien Interne des Hôpitaux de Paris

DISSOCIATION ANTIGÉNIQUE
DES BACTÉRIES
DU GROUPE TYPHO-PARATYPHIQUE
SES APPLICATIONS AU SÉRO-DIAGNOSTIC

TRAVAIL DU SERVICE DE M. R. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE
(INSTITUT PASTEUR)

Président : M. M. VILLARET, professeur

PARIS

LIBRAIRIE LOUIS ARNETTE
2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

1939

Année 1939

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PRÉSENTÉE PAR

Maurice PAYET

Né le 30 Avril 1908, à MAROANTSETRA (Madagascar)

Ancien Interne des Hôpitaux de Paris

DISSOCIATION ANTIGÉNIQUE DES BACTÉRIES DU GROUPE TYPHO-PARATYPHIQUE SES APPLICATIONS AU SÉRO-DIAGNOSTIC

TRAVAIL DU SERVICE DE M. R. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE
(INSTITUT PASTEUR)

Président : M. M. VILLARET, professeur

PARIS

LIBRAIRIE LOUIS ARNETTE
2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

1939

I. — Professeurs

Anatomie	MM.	ROUVIERE.
Physiologie		Léon BINET.
Physique médicale		STROHL.
Chimie médicale		POLONOVSKI.
Bactériologie		Robert DEBRE
Parasitologie et histoire naturelle médicale		BRUMPT.
Pathologie médicale et générale		BAUDOUIN.
Pathologie médicale		ADRAMI.
Pathologie chirurgicale		MONDOR.
Anatomie pathologique		LEROUX.
Histologie		CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale		TIFFENEAU
Thérapeutique		HARVIER.
Hygiène et médecine préventive		TANON.
Médecine légale		BALTHAZARD
Histoire de la médecine et de la chirurgie		LAIGNEL-
		LAVASTINE
Pathologie expérimentale et comparée		FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie		CHIRAY.
Clinique médicale		LOEPER.
		CARNOT.
		Marcel LABBE
		CLERC.
Hygiène et clinique de la première enfance		LEREBOULLET
Clinique des maladies des enfants		NOBECOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale		H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques		GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux		GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses		LEMIERRE.
		CUNEO.
Clinique chirurgicale		GOSSET.
		GREGOIRE.
		LENORMANT.
		TERRIEN.
Clinique ophtalmologique		CHEVASSU.
Clinique urologique		LEVY-SOLAL.
		COUVELAIRE.
Clinique d'accouchements		JEANNIN.
		MOCQUOT.
Clinique gynécologique		OMBREDANNE
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie		RATHERY.
Clinique thérapeutique médicale		LEMAITRE.
Clinique oto-rhino-laryngologique		Pierre DUVAL
Clinique thérapeutique chirurgicale		VILLARET.
Clinique propédeutique		TROISIER
Clinique de la Tuberculose		MATHIEU.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte		Clovis VINCENT.
Clinique de neuro-chirurgie		LAUBRY.
Clinique cardiologie		N...
Assistance médico-sociale		HAZARD.
		HOVELACQUE
Professeurs sans chaire		MULON.
		OLIVIER.
		SANNIE.
		VERNE.



II. — Agrégés en exercice

MM.	MM.
AMELINE	DE GAUDART
BARIETY	D'ALLAINES ..
FENARD Henri	GAYET
BERNARD Et. .	DE GENNES ...
BESANÇON (J.).	GIROUD
BOULIN	HAGUENAU
BULLIARD	HALPHEN
CATHALA	HUGUENIN
COSTE	JOANNON
CHEVALIER	LACOMME
DOGNON	LANTUEJOUL ..
FUNCK-	LAROCHE Guy.
BENTANO	LAVIER
FEY	LELONG
GAILLARD	
GASTINEL	

Pathologie chirurgicale
Physiologie.
Pathologie médicale.
Histologie.
Pathologie médicale.
Oto-rhino-laryngologie
Anatomie pathologique
Hygiène.
Obstétrique.
Pathologie médicale.
Parasitologie.
Pathologie médicale.

LEMAIRE	Pathologie expérimentale.	MM.	
LEVEUF	Pathologie chirurgicale.	PIEDELIEVRE..	Médecine légale
LEVY (M ^{re} J.)..	Pharmacologie.	PORTES	Obstétrique.
LEVY-VALENSI.	Neurologie et Psychiatrie.	RENARD.....	Ophtalmologie.
MENEGAUX ...	Pathologie chirurgicale.	RICHEL	Physiologie.
MOLLARET	Pathologie médicale.	SENEQUE .. .	Pathologie chirurgicale
MOREAU	Pathologie médicale.	TURPIN	Pathologie médicale.
MOULONGUET..	Pathologie chirurgicale.	VIGNES	Obstétrique.
MOUQUIN	Pathologie médicale.	WILMOTH	Pathologie chirurgicale
PETIT-			
DUTAILLIS	Pathologie chirurgicale.		

III. — Agrégés rappelés à l'exercice pour le service des examens

MM.		MM.	
ALGLAVE	Pathologie chirurgicale.	LARDENNOIS ..	Pathologie chirurgicale
BUSQUET	Pharmacologie.	NEVEU-	
CHAILLEY-		LEMAIRE..	Parasitologie.
BERT	Physiologie.	LE LORIER ...	Obstétrique.
HEITZ-BOYER..	Pathologie chirurgicale.	SCHWARTZ ...	Pathologie chirurgicale.
		VAUDESCAL ...	Obstétrique.

IV. — Agrégés chargés de cours de clinique annexe à titre permanent

MM.		MM.	
ALAJOUANINE..	} Clinique médicale	BASSET	} Clinique chirurgicale
AUBERTIN		BROcq	
BRULE		CADENAT ...	
CPABROL		GATELLIER ...	
DONZELOT ...		MOURE	
DUVOIR		QUENU	
LIAN		VELTER	
PASTEUR- VAL-			} Clinique obstétricale
LERY-RADOT..		ECALLE	
SEZARY		METZGER ...	

V. — Chargés de cours

MM.		
CHAILLEY-BERT, agrégé		Education physique.
LEDoux-LEBARD		Radiologie clinique
RUPPE		Stomatologie.
WEILL-HALLÉ		Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PERE

A MA MERE

AUX MIENS ET A MES AMIS

A MES MAITRES, COLLEGUES ET AMIS
DE MADAGASCAR

A la Mémoire du Docteur Jacques DAVIOUD

A Monsieur le Docteur FONTOYNONT
Ex-Directeur de l'Ecole de Médecine de Tananarive
Membre correspondant de l'Académie de Médecine
et de l'Académie de Chirurgie
Officier de la Légion d'honneur

*En témoignage de mon respectueux
dévouement.*

A Monsieur E.-G. RATINAUD
Administrateur Honoraire des Colonies

A MON MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur Maurice VILLARET

Membre de l'Académie de Médecine
Professeur de Clinique Propédeutique
à la Faculté de Médecine
Médecin de l'Hôpital Broussais
Officier de la Légion d'honneur

*Qu'il veuille bien trouver ici l'hom-
mage de ma respectueuse reconnais-
sance pour la bienveillance qu'il n'a
cessé de me témoigner et pour l'hon-
neur qu'il m'a fait en acceptant la
présidence de cette thèse.*

A Monsieur le Docteur Louis MARTIN

Membre de l'Académie de Médecine

Directeur de l'Institut Pasteur

Grand Officier de la Légion d'honneur

A Monsieur le Docteur A. PETTIT

Membre de l'Académie de Médecine
Professeur à l'Institut Pasteur

Qui a bien voulu me faire l'honneur de me considérer comme un de ses élèves.

A Monsieur R. DUJARRIC DE LA RIVIERE

Docteur ès-sciences
Chef de Service à l'Institut Pasteur
Auditeur au Conseil Supérieur de l'Hygiène
Publique de France
Officier de la Légion d'honneur

Qui m'a inspiré le sujet de ce travail et m'en a permis la réalisation. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma très respectueuse affection.

A Monsieur le Professeur Agrégé P. MOLLARET

Médecin des Hôpitaux
Docteur ès-sciences
Chef de Laboratoire à l'Institut Pasteur

Qui m'a accueilli avec tant de bienveillance dans son laboratoire, et qui m'a largement dispensé son très précieux enseignement.

En témoignage de ma profonde reconnaissance.

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

Stage

MM. le Professeur WIDAL (*in memoriam*)
le Professeur Pierre DELBET

Externat

1928-1929	MM. le Professeur F. LEGUEU
1929	le Professeur BEZANÇON
1931	le Docteur TOURAINE
1931-1932	le Docteur VIGNES
1930	le Docteur MOREAU
1932	le Docteur GUIMBELLOT
1932-1933	le Docteur HAGUENAU

Internat

1935-1936	MM. le Professeur BRINDEAU
1936-1937	le Docteur A. LAMBLING
1937-1938	le Docteur L. LÆDERICH
1938	le Docteur A. TOURAINE
1938-1939	le Docteur J. HUBER

A MES AUTRES MAITRES DANS LES HOPITAUX

M. le Docteur P. LANTUEJOUL, Professeur Agrégé
Accoucheur des Hôpitaux

A MM. les Professeurs Agrégés :

Bernard FEY, Chirurgien des Hôpitaux
Etienne BERNARD, Médecin des Hôpitaux
M. le Docteur WORMS, Médecin des Hôpitaux
M. le Docteur GALLY, Electro-Radiologiste des Hôp.
MM. les Docteurs DOSSOT, THOMAS

A MES CONFERENCIERS

MM. les Docteurs SOULIE, Médecin des Hôpitaux
Sylvain BLONDIN, Chirurgien des Hôpitaux
OUMANSKY, BOMPART, LUZUY,
BLANQUINE, DELAFONTAINE

AUX MEMBRES DE LA SOCIÉTÉ CROULEBARBE

INTRODUCTION

De nombreux travaux, surtout étrangers, ont été consacrés au cours de ces dernières années aux bacilles du groupe des *Salmonella* et plus particulièrement aux typhiques et aux paratyphiques.

L'étude morphologique des souches, la découverte des caractères immunologiques de leurs diverses variétés, la mise en évidence de propriétés antigéniques nouvelles, ont amené les auteurs à une modification profonde de la conception du séro-diagnostic tel qu'il avait été codifié par Widal et son école.

Dans la littérature médicale étrangère, surtout allemande, des critiques sévères du classique séro-diagnostic se sont multipliées.

Des commissions internationales d'éminents microbiologistes français et étrangers se sont réunies pour grouper et comparer les constatations accumulées sur les défaillances de la méthode de Widal et pour étudier les moyens d'y remédier. De nouvelles règles ont été proposées. Une standardisation des résultats par l'emploi de souches communes et de sérums agglutinants de titres constants a été proposée par les différents instituts sérothérapiques.

Avec rapidité, la question progressait et passait du stade purement immunologique au stade chimique.

Ce sont ces différentes évolutions que nous allons essayer de montrer dans une étude d'ensemble que compléteront quelques réflexions critiques qui nous ont été suggérées par nos constatations personnelles.

Nous rappellerons avant tout la conception classique de Widal, en nous attachant à préciser les points de technique simple qui en avaient fait entre ses mains, et celles de ses élèves, un procédé d'une sûreté que nous avons coutume de considérer comme absolue.

Nous exposerons ensuite les travaux fondamentaux qui ont mis en évidence les propriétés antigéniques différentes des souches « R » et « S » d'une même bactérie, et qui ont conduit les immunologistes à une dissociation encore plus complète de ces fonctions antigéniques, en isolant successivement des antigènes « O », « H », « Vi » de différentes espèces microbiennes et plus spécialement des *Samonella*.

C'est à l'existence de ces antigènes que nous devons les critiques que l'on a formulé contre la réaction de Widal, et les principales modifications qu'on tend à lui faire subir.

Enfin, nous aborderons l'aspect chimique de la question en essayant d'établir dans quelle mesure les antigènes trichloracétiques de Boivin et Mesrobéanu pourront se substituer aux corps bactériens dans des réactions de précipitations sur la valeur diagnostique desquelles on peut fonder de gros espoirs.

Ce travail abordera nécessairement un certain nombre de points encore à l'étude; il ne constitue pas une mise au point définitive, il représente simplement l'état actuel de la question, avec les critiques qu'elle comporte lorsqu'on l'envisage du point de vue clinique.

CHAPITRE PREMIER

SERO-DIAGNOSTIC DE WIDAL

Nous ne reprendrons pas ici l'historique du séro-diagnostic de Widal et celui de l'évolution des idées qui ont présidé à sa conception et à sa généralisation.

Nous rappellerons seulement les principes généraux, et la technique utilisés et préconisés par Widal dans la conduite de sa réaction, ceci dans le but d'en faire ressortir la simplicité.

SERO-AGGLUTINATION MICROSCOPIQUE

Widal la considérait comme la méthode de choix, celle qui mettait le mieux à l'abri des erreurs ou des excès d'interprétation.

a) Choix des souches

Les souches employées doivent être choisies parmi des échantillons ayant subi des épreuves d'identifications rigoureuses.

Leur conservation se fera sur gélose et en bouillon suivant la technique et les indications habituelles.

Une précaution est indispensable : c'est la vérification périodique de leur agglutinabilité par un sérum expérimental, ces souches pouvant, par suite de leurs nombreux passages sur les milieux artificiels, perdre plus ou moins de leurs caractères initiaux.

b) Technique de la séro-réaction

La réaction se pratique en mettant en présence dans des verres de montre des dilutions progressives du sérum à examiner et une émulsion d'une culture sur gélose, ou une culture en bouillon de 24 heures.

On laisse en contact pendant 15 à 20 minutes à la température du laboratoire. Une goutte de chaque dilution est ensuite prélevée, placée entre lame et lamelle et examinée au microscope avec un objectif à sec.

L'agglutination ainsi recherchée se manifeste à l'observateur par la formation d'amas que l'on voit se compléter et s'enrichir pendant la durée de l'examen.

Les dilutions effectuées seront de 1/20, 1/50, 1/100 et on aura recours selon les cas à des dilutions intermédiaires, ou à des dilutions supérieures pour fixer le taux limite de l'agglutination.

Parallèlement une goutte de l'émulsion microbienne sans adjonction de sérum sera examinée dans les mêmes conditions, et servira de témoin.

SERO-DIAGNOSTIC MACROSCOPIQUE

Dans ce cas on pourra utiliser soit une culture de 24 heures comme dans le cas précédent, soit une

culture tuée par la chaleur, soit enfin une émulsion stabilisée par adjonction de 0,02 % de formol du commerce.

Le mélange agglutinant sera fait dans des tubes à hémolyses aux mêmes taux que précédemment, son volume total étant le même dans tous les tubes.

Le tube témoin sera fait d'une proportion correspondante d'émulsion microbienne.

Les tubes ainsi préparés seront placés à l'étuve à 37° et y seront laissés pendant 4 heures au terme desquelles se fera la lecture.

Une réaction positive se traduit par la présence de flocculats nettement visibles à l'œil nu, et dont la formation va de pair avec l'éclaircissement du liquide surnageant.

Le taux maximum de l'agglutination sera apprécié par rapport au tube témoin, dans lequel l'émulsion doit rester en suspension homogène.

Cette méthode plus complexe que la séro-agglutination microscopique est considérée par Widal comme étant en outre moins précise.

ELIMINATION DES COAGGLUTININES

La méthode des dilutions successives permet d'y parvenir très simplement, le germe en cause dominant dans la règle le titre d'agglutination le plus élevé.

La méthode de saturation des agglutinines de Castellani est trop délicate pour la pratique quotidienne des laboratoires cliniques.

Dans les cas exceptionnels où agglutinines et co-agglutinines se trouvent dans un sérum à des titres à peu près équivalents, la répétition des épreuves les jours suivants finira toujours par faire ressortir le germe en cause dont le titre d'agglutination deviendra plus ou moins vite prédominant.

CAUSES D'ERREURS

Widal en reconnaissait deux principales :

— l'agglutination spontanée de la culture. D'où la règle de faire toujours un témoin, la présence d'amas dans le témoin ôtant toute valeur à l'épreuve ;

— la recherche trop précoce du séro-diagnostic : si dans la majorité des cas, il est positif dès la fin du 1^{er} septenaire, les réactions retardées sont loin d'être rares et un séro-diagnostic négatif isolé ne permet pas d'infirmer un diagnostic de fièvre typhoïde.

INTERPRETATION DES RESULTATS

— Widal et ses élèves, et à leur suite de très nombreux auteurs, considèrent comme absolue la valeur d'un séro-diagnostic positif. Ils estiment inversement, qu'il faut faire toute réserve sur la nature typhique possible d'une affection au cours de laquelle des séro-diagnostic pratiqués en série et dans des conditions correctes, auraient toujours été négatifs, et, sans méconnaître la possibilité de fièvres typhoïdes à séro-diagnostic toujours négatifs, ils en soulignent le caractère tout à fait exceptionnel.

CHAPITRE DEUXIEME

A. -- DISSOCIATION DES ANTIGENES DES BACILLES DU GROUPE TYPHO-PARATYPHIQUE

GENERALITES

Depuis longtemps déjà la notion de la multiplicité des antigènes bacillaires avait été entrevue par différents auteurs, et dès 1907, Th. Smith, Reagh et Beyer distinguaient, dans le groupe des paratyphiques un antigène *somatique* propre aux corps bactériens, et un antigène *flagellaire* propre aux cils.

Maurice Nicolle et ses élèves, en 1917, montraient dans un important travail, la complexité antigénique de différents groupes bactériens, admettant l'existence, pour chacun d'eux, d'un antigène dominant et de nombreux antigènes secondaires. Chaque germe représente, selon l'expression de Nicolle, une *mosaïque* d'antigènes groupés autour d'un antigène qui domine l'ensemble de ce groupement et caractérise la spécificité du microbe en cause.

Parallèlement à ces travaux des études se poursuivirent sur la variabilité microbienne et on en ve-

nait, dès 1904, après les travaux de Preitz, à distinguer, pour un même germe, différents aspects des colonies dans les cultures.

Les travaux de Legroux et Magrou sur le vibron cholérique, ceux d'Arkwright précisèrent définitivement ces différents aspects, et permirent d'établir une distinction entre les colonies lisses, ou du type « S », et les colonies plissées ou du type « R » ⁽¹⁾.

En 1917 les travaux de Weill et Félix sur le séro-diagnostic du typhus exanthématique par les souches de *Protéus* isolées des urines de malades atteints de typhus, précisent pour le *Protéus*, l'existence de deux types sérologiquement différents. Confrontant ces différences avec les aspects de cultures observées pour les germes correspondants, ils les distinguèrent en deux variétés « H » et « O » ⁽²⁾.

A la variété « H » correspondent des germes mobiles présentant en culture sur gélose, un aspect en nappe.

A la variété « O » des germes immobiles ayant dans les mêmes conditions, un aspect irrégulier non confluent.

A ces deux types morphologiques correspondent deux types d'agglutination : agglutination finement granulaire, pour les formes « O » ; agglutination floconneuse, à gros flocons, pour les formes « H ».

(1) « R » et « S » sont les premières lettres des deux adjectifs anglais *Rough* et *Smooth* qui ont prévalu dans la nomenclature.

(2) « H » et « O » sont les lettres de début des mots allemands. *Hauch* : nappe et *Onhe Hauch* sans nappe, que l'on trouve dans les descriptions de Weil et Félix et qui caractérisaient les deux aspects principaux des cultures en gélose.

Isolant des formes « O » pures et les traitant par immunsérum correspondant, Weil et Félix constatent que l'antigène « O » est strictement spécifique, et que mis en contact avec un sérum « O » + « H » il se comporte comme un antigène dominant.

Cet antigène « O » caractérise d'une manière absolue les formes immobiles non ciliées et représente l'antigène somatique.

Les souches « H » contiennent au contraire deux antigènes : l'antigène « O » et l'antigène « H » et correspondent aux formes ciliées mobiles. « H » représente donc l'antigène ciliaire, toujours mélangé à « O » et isolable seulement par saturation de « O » *in vitro*.

Des caractères physiques, sont en outre venus préciser encore les propriétés de ces deux antigènes, le principal est l'action de la chaleur opposant l'antigène « O » thermostable et résistant à 100°, à l'antigène « H » thermolabile et détruit aux environs de 70°. Ce procédé permet d'isoler l'antigène « O » de toutes les souches de bacilles quel que soit leur caractère. Les bacilles du type « H » ne conservent après chauffage à 100° que leur antigène somatique et se comportent alors comme des réactifs « O » purs.

Weil, Félix et Mitzemacher montrèrent, en 1920, que ces mêmes dissociations antigéniques s'observent sur les bacilles du groupe des *Salmonella* et les étudient plus particulièrement pour les microbes du groupe typho-paratyphique.

Poursuivant ses travaux, Félix décrivit enfin un troisième facteur antigénique, l'antigène « Vi », pro-

pre au bacille d'Eberth, et considéré par lui comme en étant le facteur de virulence et ces notions amenèrent Félix, Kauffman, et nombre d'auteurs allemands et anglais, à une conception nouvelle du séro-diagnostic de la fièvre typhoïde et à d'importantes modifications de sa technique.

Au cours de ces dernières années la question est entrée dans sa phase chimique à la suite des remarquables travaux de Boivin et J. et L. Mesrobéanu, de Topley et de Raistrick, qui ont isolé et concentré par différents procédés les antigènes « O » et « Vi » des bacilles du groupe typho-paratyphique.

B. -- CARACTERES DES SOUCHES « R » ET « S » DES BACILLES DU GROUPE TYPHO-PARATYPHIQUE

I. -- Caractères morphologiques

Ces deux variétés sont appréciables très simplement par l'examen des colonies séparées sur gélose.

a) Souches « R »

Elles se présentent sous formes de colonies circulaires sèches à bords dentelés et souvent fortement plissés; vues à jour frisant, elles sont mates, sèches et non fluorescentes.

En bouillon, elles poussent en amas qui tombent dans le fond du tube, formant un dépôt assez cohérent qui se remettra en suspension fragmentaire par agitation.

Ces colonies sont d'ailleurs difficilement émulsionnables, et un de leurs caractères fondamentaux est leur agglutination spontanée en eau physiologique.

Toute solution électrolytique tant soit peu concentrée, suffit à provoquer l'agglutination des souches « R ». Aussi comprend-on que l'étude des réactions sérologiques spécifiques de telles souches, ne puisse se faire avec certitude, qu'en employant des suspensions en solutions pauvres en sels. Une concentration à 2/1000 en NaCl donnera habituellement satisfaction.

Signalons enfin que les races « R » donnent rarement des colonies filles.

Souches « S »

Elles se distinguent aisément par le simple examen, et présentent des caractères morphologiques absolument différents de ceux des colonies « R ».

Sur gélose elles donnent des colonies rondes, régulières, légèrement convexes à bords réguliers; surtout le caractère dominant de ces colonies est d'être parfaitement lisses. Vues à jour frisant, elles sont brillantes, humides, et légèrement fluorescentes. Elles donnent facilement des colonies filles.

En bouillon elles font apparaître un trouble homogène et ne font que très peu de dépôt, troublant le milieu sur toute sa hauteur.

Ces colonies sont facilement émulsionnables, et forment dans l'eau physiologique, des suspensions homogènes et stables, ne présentant aucune tendance à l'agglutination spontanée.

II. -- Caractères biologiques

Souches « R »

Elles sont, en règle générale, peu pathogènes et toujours peu ou pas virulentes.

Très sensibles à la phagocytose elles sont plus résistantes au bactériophage.

Elles sont facilement détruites par les agents physiques et les antiseptiques.

Dans la nature, on les retrouve au cours des infections chroniques peu bruyantes, chez les porteurs de germes.

Au point de vue antigénique, elles ne portent qu'un antigène : l'antigène « R » thermostable. Cet antigène n'aurait d'autre part pour certains auteurs qu'une *spécificité de groupe*. Alors que la mise en présence d'un immunsérum « R » ne donne avec des souches « S » aucune agglutination, il pourrait agglutiner toutes les *Salmonella* « R », et même des germes voisins tels que le Shiga « R ». Ce fait n'est d'ailleurs pas admis par tous les auteurs, et cette perte de spécificité des formes « R » sous des influences mal définies conduit à la conception d'un « *antigène cosmopolite* » des *Salmonella*, antigène « O », dont il faudrait alors tenir grand compte dans l'identification des souches.

Les souches « R » enfin sont absolument dépourvues d'antigène « O » et l'absence d'antigène « Θ » a pour conséquence la très faible virulence de ces souches « R ». Nous avons déjà insisté sur ce point.

Les caractères d'agglutination sont encore intéressants à préciser : l'agglutination « R » se particularise par ses amas très fins, très denses, plus petits même que ceux observés dans les agglutinations du type « O ».

Enfin un fait caractérise encore les souches « R », c'est leur agglutinabilité par la tryptaflavine à 1 p. 1.000, phénomène d'interprétation encore discutée, et que Bruce White considère comme dépendant de l'absence dans les souches « R », de polysaccharides spécifiques.

b) Souches « S »

Elles s'opposent aux souches « R » par tous leurs

caractères. Pathogènes et virulents, contenant deux antigènes « O » et « S », fréquentes dans les infections aiguës, elles sont résistantes à la phagocytose, et plus résistantes que les formes « R » aux agents physiques et aux antiseptiques.

Elles possèdent un polysaccharide spécifique que l'on peut isoler, et qui entre dans la constitution de l'antigène « O ». Elles ne sont pas agglutinables par la trypaflavine à 1/1000, et donnent, avec leurs formes immobiles, des agglutinations de type somatique caractéristiques.

Tels sont les caractères essentiels qui opposent les formes « R » et « S » des *Salmonella*.

Disons néanmoins immédiatement que ces caractères n'ont rien de très fixe, et que l'on peut voir une souche « R » passer spontanément, ou sous l'influence de modifications des milieux, au type « S ». La dissociation en sens inverse est possible quoique beaucoup plus rare. On peut aussi observer fréquemment côte à côte sur la même culture, au cours de son évolution, des formes intermédiaires que l'on caractérise alors par le symbole « R-S ».

Bien que la signification exacte de ces dissociations nous échappe encore complètement, on conçoit l'intérêt qu'elles présentent dans la détermination sérologique des différentes *Salmonella*. On comprendra que les souches « R » instables en émulsion, spontanément agglutinables, pouvant présenter un antigène de groupe comme l'antigène Θ soient rigoureusement écartées des collections destinées à la pratique du

séro-diagnostic. Disons, dès maintenant, que ces faits avaient déjà été observés par Widal et Chantemesse, qui les signalèrent en ces termes dans une communication à la Société Médicale des Hôpitaux de Paris en février 1887. « Les formes prises par les colonies sur les plaques de gélatine étalées suivant le procédé de Koch sont des plus intéressantes à connaître ; car ce sont elles qui permettent de déceler le germe typhique dans l'eau, les matières, les urines. Il leur faut deux ou trois jours pour apparaître ; dans les cas types, elles se présentent larges comme une forte tête d'épingle, minces, pelliculaires, nacrées, transparentes et les jours suivants, malgré l'accroissement de volume, la transparence et la teinte bleuâtre persistent. Au bout de cinq à six jours elles ont atteint les dimensions d'une lentille, leur contour est devenu irrégulier, découpé comme les côtes d'une île, plus mince en général que leur centre et leur surface est devenue granuleuse.

Examinées à un faible grossissement (obj. « O » ou « I » de Verich), elles paraissent parcourues dans toute leur étendue par des sillons plus ou moins marqués. Souvent, leur surface est plus tourmentée encore, et toute la colonie semble formée de circonvolutions d'intestin grêle enroulées sur elles-mêmes. La combinaison de ces deux aspects jointe à la coloration brillante de l'ensemble donne quelquefois à la colonie, l'aspect d'une montagne de glace. Cette forme est loin d'être constante, et l'on ne saurait répéter que la culture du bacille typhique sur gélatine est essentiellement polymorphe. Souvent, en effet, les co-

lonies sur plaques restent petites, nettement circulaires, régulières à leur surface comme dans leurs contours. Dès lors, elles n'ont plus aucun caractère distinctif avec nombre de germes qui pullulent dans tous les milieux organiques. »

On trouve dans ce passage une description correspondant aux caractères que l'on devait assigner plus tard aux colonies « R » et « S ». Et si Widal ne pouvait à cette époque saisir le sens exact de ces aspects, il n'en avait pas moins remarqué que certaines cultures en bouillon auto-agglutinables devaient être écartées pour les séro-diagnosics.

Nous donnons ci-dessous un tableau extrêmement schématique, des rapports existant entre la dissociation morphologique, et la dissociation antigénique des bactéries. Ce tableau, forcément très incomplet comme on le verra par la suite, fixera, en les précisant, les liens qui unissent entre eux les bacilles d'une même espèce, et les antigènes qui distinguent les uns des autres les différents aspects d'un même germe.

Salmonella

Souches « R »		Souches « S »	
« R » mobiles	« R » immobiles	« S » mobiles	« S » immobiles
{	Antigène « R »	{	Antigène « O »
	Antigène « H »		Antigène « O »
		{	Antigène « H »
Phase aspécifique	Phase spécifique	Phase spécifique	Phase aspécifique

C. -- ANTIGÈNES « O », « H » et « Vi »

Définition

Nous rappellerons, au début de ce chapitre, la définition des antigènes « O » et « H » que l'on peut mettre en évidence dans un nombre considérable de bactéries, en insistant sur le fait qu'ils sont strictement spécifiques du type bactérien qui les porte. L'antigène « Vi » le dernier venu paraît jusqu'à maintenant dans le groupe des typhiques et paratyphiques « A » et « B », propre au seul typhique et mérite une place particulière.

— *L'antigène « O »* représente du point de vue immunologique l'antigène somatique des bactéries « S » (Smooth), c'est-à-dire qu'on le trouvera constamment, qu'il s'agisse de souches *Smooth* immobiles où il est pur et seul, ou de souches *Smooth* mobiles où il est associé à l'antigène « H » ou antigène flagellaire. Au point de vue sérologique, il se caractérise par une agglutination lente, finement granulaire.

— *L'antigène « H »* représente, du point de vue immunologique l'antigène ciliaire des bactéries flagellées, qu'elles soient « R » ou « S ». Il n'est jamais pur dans la nature, mais toujours associé, notamment dans les formes « S » à l'antigène « O ». On ne peut l'en séparer que par des artifices. Il n'existerait donc pas de souches « H » pures.

Au point de vue sérologique, les souches « H », qui, rappelons-le, comportent toujours « H » + « O », se caractérisent par une agglutination rapide, floconneuse à amas lâches, telle qu'elle est habituellement constatée dans le séro-diagnostic classique de Widal.

Antigène « O »

Caractères généraux

Nous avons déjà dit que la distinction entre antigène somatique et ciliaire avait été établie dès 1907 par Smith, Reagh et Beyer. Mais ces faits étaient tombés dans l'oubli lorsqu'ils furent repris en 1917 par Weil et Félix à propos de l'agglutination du *Proteus*.

En 1920 ces auteurs ont étendu leurs constatations aux typho-paratyphiques et précisé pour ces germes les caractères de leur antigène « O ».

L'ANTIGÈNE « O », REPRÉSENTE L'ANTIGÈNE SOMATIQUE ET LUI SEUL.

Il se trouve, en effet, dans toutes les souches *Smooth* mobiles ou immobiles, à l'exclusion absolue des souches « R » dans lesquelles il n'existe pas. Mais il existe à l'état de pureté dans les souches immobiles; on peut s'en rendre compte soit par sélection des souches, soit par destruction par la chaleur, des autres antigènes, notamment de l'antigène « H ».

L'ANTIGÈNE « O » EST THERMOSTABLE.

Ceci est en effet son deuxième grand caractère. On s'en rendra compte, par l'étude des souches « O » vi-

vantes, ou chauffées pendant 1 heure à 100° : elles se comportent d'une manière identique vis-à-vis des anti-corps « O ». D'autre part le chauffage à 100° d'une souche « S » quelconque permet d'éliminer complètement l'antigène « H », mais laisse intact l'antigène « O ».

L'antigène « O » résiste au traitement d'émulsions microbiennes par l'alcool absolu et par les acides dilués, notamment l'acide phénique. Il est détruit au contraire par le formol à la concentration de 0,5 %.

Notons enfin l'opposition qui existe entre antigène « O » et anticorps « O » au point de vue de leur résistance aux agents physiques, l'anticorps « O » étant détruit à 70°.

CARACTÈRES DES SOUCHES « O ».

Elles paraissent bien exister dans la nature, bien qu'on ne les rencontre que rarement dans les produits pathologiques. Les observations d'hémoculture ayant permis d'isoler une souche « O » pure restent en effet exceptionnelles, les souches « S » mobiles paraissant être de très loin prédominantes.

Le plus souvent les souches « O » sont obtenues par sélections, et isolements successifs, sur milieux solides. Elles contiennent malgré tout une quantité plus ou moins importante d'antigène « H » qu'il sera toujours possible d'éliminer par chauffage.

Leur aspect en culture sur gélose est caractéristique. Elles prennent un aspect irrégulier, discontinu, dû à l'indépendance relative des différentes colonies formant la culture. Ces colonies sont, bien entendu, toujours des colonies lisses.

En gélose profonde ou demi-solide, elles donnent une culture homogène, ne présentant pas de tendance à la diffusion dans le milieu.

Nous donnerons dans un autre chapitre le détail de la technique recommandée par Félix pour la préparation d'émulsion « O ».

Propriétés immunologiques

L'antigène « O » est strictement spécifique du type et ne donne d'agglutination qu'avec les immunsérums correspondants.

Toutefois, l'on admet actuellement qu'il existe une identité sérologique complète entre l'antigène « O » du typhique, et l'antigène « O » du bacille de Gartner. Ce fait a une grosse importance car il entame alors le dogme de la spécificité stricte de l'antigène somatique.

Il est distinct de l'antigène somatique « R » qui d'ailleurs serait de nature chimique différente.

En effet, si les colonies « R » ne sont pas agglutinées par les immunsérums « S » correspondants, elles ne le sont pas davantage par les immunsérums « O ».

L'antigène « O » enfin apparaît à la lueur des travaux de White et de Kauffman comme pouvant être constitué de un ou plusieurs facteurs antigéniques séparables sérologiquement.

Ces facteurs antigéniques seraient au nombre d'une vingtaine pour tout le groupe des *Salmonella*, et ont été mis en évidence par des réactions d'agglutinations croisées, et d'absorption d'immunsérum portant sur

toutes les *Salmonella* connues. Ces travaux qui présentent un intérêt immunologique indiscutable, et qui ont pour conséquence une classification extrêmement précise des différents types de *Salmonella*, ne présentent d'ailleurs pas d'application pour le séro-diagnostic de la typhoïde.

Il faut toutefois mentionner, parmi ces facteurs de l'antigène « O », le facteur XII ⁽¹⁾ de la nomenclature de Kauffman. Ce facteur XII serait pour beaucoup d'auteurs, partiellement responsable des coagglutinations, des paratyphiques « A » et « B » dans les sérums de malades riches en anticorps « O ». Ces coagglutinines s'éliminent naturellement par les dilutions successives des sérums examinés.

L'ANTIGÈNE « O » SERAIT LE SUBSTRATUM ESSENTIEL DE LA VIRULENCE.

Topley et Ayston montrèrent en 1924 que, parmi les *Salmonella*, seules les souches « S » présentent des caractères de virulence toujours infiniment plus importants que ceux des souches « R » correspondantes.

Puis Arkwright en 1927 démontra que parmi les *Salmonella*, les souches possédant l'antigène « O » : soit souches « S » mobiles et immobiles, présentent une virulence infiniment supérieure à celle des souches ne possédant pas cet antigène : soit souches

(1) Cette dénomination correspond à la nomenclature des facteurs antigéniques des *Salmonella* proposée par Kauffmann et a été adoptée par la très grande majorité des microbiologistes. On la trouvera reproduite dans le rapport de Boivin au Congrès des Microbiologistes de Langue française tenu à Paris le 27 octobre 1938.

« R » mobiles et immobiles. L'antigène « H » sur lequel nous reviendrons ne paraît avoir aucune influence sur le pouvoir toxique des germes, qui serait entièrement dévolu à l'antigène « O ».

A ce propos un fait paraissant lourd de conséquences pratiques, doit immédiatement être mis en valeur :

Le pouvoir vaccinant des bactéries tuées est proportionnel à leur richesse en antigène « O ». Ce fait a été démontré par Topley et ses collaborateurs, et confirmé par Weil et Félix qui montrent que l'anticorps « O » est responsable du pouvoir bactériolytique des sérums antibactériens, et qu'il favorise hautement la phagocytose.

Ces faits ont amené les auteurs à une théorie fort ingénieuse du rôle et de la place de l'antigène « O » dans l'infection. Ce serait un « antigène d'enveloppe » isolant et protégeant le corps bactérien, seule une altération spécifique de cet antigène par l'anticorps correspondant permettrait de sensibiliser le bacille à la phagocytose, après avoir modifié sa couche superficielle protectrice.

Weil d'ailleurs pousse plus loin l'hypothèse représentant les corps bactériens Smooth comme porteurs de trois antigènes somatiques superposés et se masquant mutuellement. Ces trois antigènes seraient de la superficie à la profondeur, l'antigène Smooth, l'antigène Rough et l'antigène ϕ . Nous ne commenterons pas ces hypothèses et ces travaux que leur complexité, et leur ingéniosité même, nous paraissent placer en dehors du domaine pratique.

Constitution chimique

De très nombreux travaux ont précisé, au cours de ces dernières années, la nature chimique des antigènes des *Salmonella*. A ces travaux, sont attachés, à l'étranger, les noms de Topley, Raistrick, Morgan. En France celui de Boivin et de ses collaborateurs J. et L. Mesrobéanu qui, les premiers, isolèrent ces antigènes du corps des bactéries à Gram négatif. Nous ferons dans ce chapitre, de très larges emprunts à leurs publications.

L'étude des antigènes chimiques extraits des bactéries remonte aux travaux de Dochey et d'Avery sur les substances contenues dans la capsule du pneumocoque et à ceux ultérieurs d'Heidelberger et Avery qui précisèrent la nature de ces substances qu'ils démontrèrent comme étant des polysaccharides spécifiques.

Ces polysaccharides sont, en effet, spécifiques de la race de pneumocoques dont on les extrait, et précipitent à de très hautes dilutions en présence des immunosérums correspondants aux bactéries qui ont servi à les isoler. Ici, paraît pour la première fois, la notion de réaction de précipitation, pouvant se substituer avec une spécificité égale et une précision plus grande, aux réactions d'agglutination.

Ces polysaccharides sont propres aux races Smooth qui sont les races présentant une capsule. Jamais une trace n'en a pu être extraite des races Rough qui ne présentent pas de capsule.

L'étude immunologique montra ensuite que ces polysaccharides des pneumocoques, injectés à l'animal,

font apparaître dans le sérum un pouvoir précipitant très élevé, mais n'y font pas naître d'anticorps en quantité appréciable. Ils se comportent donc comme des antigènes incomplets ou haptènes.

Depuis, des polysaccharides spécifiques ont été extraits d'une multitude de microbes parmi lesquels les *Salmonella*. Dans leurs cas particuliers ces polysaccharides extraits par la méthode de White (chauffage des corps microbiens en présence d'acide dilué et précipitation des polysaccharides par l'alcool, après élimination des corps bactériens par centrifugation) se montrent tous comme étant des haptènes. Ils donnent en présence des immunsérums correspondants, une précipitation finement granulaire rappelant exactement l'aspect des agglutinations somatiques. On attribue de même aux *Salmonella* un polysaccharide spécifique des races Smooth distinct de celui des races Rough, et, pour White, on pourrait d'après le nombre des polysaccharides qu'elles portent, distinguer 3 groupes aux *Salmonella*.

Les *Salmonella* « S » porteraient deux polysaccharides « R » et « S », les *Salmonella* « R » ne porteraient que le polysaccharide « R »; enfin une troisième variété « R » exceptionnelle qu'il désigne par la lettre φ porterait un troisième polysaccharide spécifique, isolé, qui existerait associé aux autres dans les formes « R » et « S ».

De toutes ces études il reste un fait dominant : les polysaccharides spécifiques ne sont pas antigéniques. Ils ne représentent donc qu'une partie de l'antigène somatique « O », auquel est dévolu le pouvoir de

faire apparaître dans le sérum des animaux l'anticorps « O », et tenant sous sa dépendance le pouvoir vaccinant.

L'antigène « O » complet fut alors considéré pendant longtemps comme formé de deux éléments en liaison fragile : un polysaccharide, facteur de la spécificité, et une protéine à laquelle on attribuait, hypothétiquement, le pouvoir antigénique. La fragilité de cette liaison polysaccharide-protéine expliquait qu'elle ne résistât point aux procédés d'extractions.

S'il en était ainsi pour les bactéries *gram positif*, le cas des bactéries à *gram négatif* s'avéra différent comme Boivin et ses collaborateurs eurent le mérite de le découvrir en 1933. Ces auteurs parvinrent à extraire du corps des bactéries du groupe des *Salmonella* un composé glucido-lipidique qui se révéla, par la suite, être un antigène complet et représenter en même temps le constituant majeur de l'endotoxine microbienne.

A la faveur de cette notion, on voit tout à coup la vieille classification empirique des bactéries, d'après leurs réactions vis-à-vis de la double coloration de Gram s'expliquer maintenant partiellement par la constitution chimique même du corps microbien. En effet, seules les bactéries à Gram négatif, livreront au chimiste des antigènes complets, alors que les bactéries à Gram positif, n'ont, jusqu'à maintenant, permis que l'extraction d'haptènes polysaccharidiques. Mais il faut savoir que l'on peut rencontrer, chez une même espèce bactérienne à Gram négatif, des variantes ne comportant pas d'antigène glucido-lipidique.

L'antigène glucido-lipidique somatique

Cet antigène, extrait par des corps microbiens par l'action de l'acide trichloracétique fut découvert par Boivin et ses collaborateurs dès 1933. Peu de temps après, en 1934, Raistrick et Topley, par digestion tryptique des corps bactériens, retrouvaient le même corps. Enfin Morgan parvenait au même résultat en 1937 en employant le dyéthylène glycol.

CARACTÈRES PHYSIQUES DE L'ANTIGÈNE GLUCIDO-LIPIDIQUE.

Ils sont ainsi définis par Boivin.

Il s'agit d'une substance solide, soluble dans l'eau, et donnant des solutions légèrement opalescentes. Elles sont insolubles dans les solvants organiques, alcool, éther, chloroforme. Le composé à grosse molécule ne dialyse pas ou dialyse peu, même à travers les membranes de grande perméabilité. Il résiste à l'action de la chaleur à 100° pendant une heure en milieu neutre.

L'autoclavage à 120° altère en grande partie son pouvoir antigénique.

Le chauffage en milieu acide détruit rapidement le complexe glucido-lipidique.

Le chauffage ménagé, en milieu faiblement acide, provoque la décomposition du complexe en acides gras, qui précipitent, et en polysaccharides qui restent dissous. Les polysaccharides sont précipitables de leurs solutions par l'alcool.

La composition chimique précise de ce corps est encore mal établie. Elle paraît complexe dans sa

structure et selon Boivin, d'un type absolument nouveau en Biochimie. De toutes façons ils n'ont aucun rapport de constitution avec les protéines.

PROCÉDÉS D'EXTRACTION.

Etant donné l'importance de ce composé, et pour en faire comprendre la signification exacte, nous donnerons rapidement le principe des procédés d'extraction en insistant sur celui de Boivin, que nous avons vu pratiquer à son Laboratoire de l'Institut Pasteur à Garches.

PROCÉDÉ DE BOIVIN A L'ACIDE TRICHLORACÉTIQUE.

Sous l'action de l'acide trichloracétique, les corps microbiens sont, en quelque sorte, fixés par coagulation de leur protéine. La membrane du corps bactérien devient alors perméable aux substances contenues en lui. Toutes les substances acido-solubles passent en solution dans l'acide trichloracétique.

Il est curieux de noter, comme nous l'a montré M. Boivin, que le traitement des corps bactériens par l'acide trichloracétique ne modifie en rien, et leur morphologie, et leur comportement vis-à-vis de la coloration de Gram.

Après élimination des corps bactériens par centrifugation énergique, on obtient un extrait trichloracétique opalescent, qui pourra être utilisé sans purification après simple neutralisation. A. Boivin insiste sur le caractère opalescent du liquide. Cette opalescence persiste après centrifugation prolongée à très grande vitesse. Elle est le témoin de la présence dans la solution de l'antigène glucido-lipidique.

La purification de l'antigène glucido-lipidique contenu dans l'extrait trichloracétique, s'obtiendra en utilisant la propriété de l'antigène de ne pas dialyser, même à travers les membranes les plus perméables. Ce procédé éliminera l'acide trichloracétique, et les nombreuses substances minérales et protéiques, qui ont pu diffuser hors des cadavres bactériens.

Enfin, on peut obtenir l'antigène glucido-lipidique purifié par sa précipitation par l'alcool ou l'acétone. Il se présente sous l'aspect d'une substance jaunâtre, soluble dans l'eau, et donnant une solution opalescente. Nous insistons sur le fait que cette opalescence est le témoin formel de la présence de l'antigène.

Nous avons déjà vu que l'on peut, par chauffage ménagé, en milieu faiblement acide, dissocier cet antigène en ses deux constituants.

RENDEMENT.

Le rendement de la méthode à l'acide trichloracétique employé seul est déjà élevé, puisqu'il donne en moyenne un chiffre voisin de 5 milligrammes d'antigène pour 100 milligrammes de microbes secs : Il est inférieur d'environ 60 % à celui de la méthode de Topley et Raystrick par digestion trypsique, mais très suffisant pour des épreuves de précipitation ou d'agglutination. Mais aucun procédé, même associant la digestion des corps microbiens par la trypsine, et l'extraction à l'acide trichloracétique du produit de digestion, ne permet d'extraire la totalité de l'antigène glucido-lipidique qui représente environ 10 % du poids sec des microbes.

PROCÉDÉ DE RAISTRICK ET TOPLEY.

Ces auteurs emploient la destruction des protéines par la digestion tryptique des corps microbiens.

Le produit de digestion, est ensuite traité par des précipitations alcooliques fractionnées. Elles aboutissent à l'isolement d'un produit biologiquement semblable à l'antigène glucido-lipidique, et qui libère à l'hydrolyse acide, des acides gras et des sucres de nature polysaccharidique.

PROCÉDÉ DE MORGAN. — Voisin de celui de Boivin, il utilise la propriété que possède le dyéthylène glycol d'insolubiliser les protéines, l'antigène passant en solution d'où il est isolable par dialyse.

CARACTÈRES BIOLOGIQUES DE L'ANTIGÈNE GLUCIDO-LIPIDIQUE « O ».

*Les antigènes somatiques glucido-lipidiques
sont des antigènes complets :*

Injectés à l'animal, ils provoquent l'apparition d'anticorps, ceci les distingue des haptènes polysaccharidiques, encore appelés antigènes résiduels. Nous rappellerons à ce propos la définition de ce qu'est un haptène : c'est un corps spécifique susceptible de faire apparaître dans le sérum des animaux des précipitines ou des agglutinines spécifiques, mais incapable d'y faire apparaître des anticorps, et privé à ce titre de tout caractère antigénique proprement dit.

On peut d'ailleurs, de l'antigène complet isoler, l'haptène polysaccharidique, comme nous l'avons dit précédemment.

*L'antigène glucido-lipidique somatique
est spécifique :*

Injecté à l'animal il donne un sérum qui précipite électivement, et en toutes proportions, lorsque ce sérum est mis en présence d'une solution d'antigène.

Le même sérum mis en présence de bactéries de la souche qui a servi à extraire l'antigène, ou de souches bactériennes du même type, les agglutine à un taux toujours très élevé, et n'agglutine pas les autres germes du même groupe.

*L'antigène glucido-lipidique est toxique
pour l'animal :*

Injecté par voie veineuse, ou péritonéale, il montre un pouvoir toxique élevé puisqu'une dose de l'ordre du dixième de milligramme suffit à tuer la souris. Le lapin est encore plus sensible à cette toxicité.

Chez la souris, l'inoculation intrapéritonéale de 1/2 à 1/10 de milligramme d'antigène provoque la mort dans un laps de temps dépassant rarement 48 heures; des doses plus élevées provoquent la mort en quelques heures. Peu de temps après l'injection, les animaux présentent de la diarrhée et de la dyspnée, et la mort survient plus ou moins rapidement sans qu'apparaissent d'autres manifestations.

A l'autopsie, on note une forte congestion des viscères, nettement prédominante au niveau de l'intestin. Delafield et ses collaborateurs, ont signalé des troubles importants du métabolisme des glucides, à type d'hyperglycémie. Ces phénomènes ne sont pas spéciaux à l'antigène glucido-lipidique des *Salmonel-*

la, on les retrouve quelle que soit l'origine de l'antigène injecté.

Signalons enfin que ce pouvoir toxique résiste au chauffage à 100°, en milieu neutre, pendant une demi-heure.

La découverte de ce fait a amené Boivin et ses collaborateurs à considérer l'antigène glucido-lipidique somatique comme étant le constituant essentiel de l'endotoxine du corps microbien. Ils appuient leur conviction sur les faits suivants :

a) L'antigène glucido-lipidique représente une partie importante de la cellule bactérienne puisqu'il s'y trouve dans des proportions variant de 5 à 10 %.

b) Il diffère des exotoxines par toute une série de caractères que nous résumerons brièvement.

1° Thermostable il s'oppose aux exotoxines thermolabiles.

2° Injecté à l'animal, il provoque l'apparition d'une antitoxine infiniment moins active que celle des exotoxines.

3° L'endotoxine ne se détoxifie pas, par contact prolongé avec le formol — contrairement à ce qui se passe pour l'exotoxine (anatoxine de Ramon).

4° L'endotoxine ne se trouve qu'en quantité minime dans les liquides de filtration ou dans les autolysats.

5° Au point de vue chimique, la nature protéique vraisemblable de l'exotoxine, l'oppose à la constitution aprotéique de l'antigène somatique.

6° Les exotoxines sont séparables des endotoxines par voie chimique. On utilise, dans ce cas, la pro-

priété de l'acide trichloracétique, de solubiliser les endotoxines, en même temps qu'il précipite les exotoxines qui se comportent donc comme des protéines. On récupère l'exotoxine dans le précipité.

c) Il représente un des constituants les plus importants de l'endotoxine.

A quantité égale, l'antigène complet se montre légèrement moins toxique que les corps bactériens totaux. Une série d'expériences ingénieuses ont amené Boivin et ses collaborateurs à donner à l'endotoxine la formule suivante :

Endotoxine = antigène somatique complet + endotoxine protéique. Le rôle le plus important étant dévolu à l'antigène somatique.

Reprenant les différentes propriétés des souches « R » et « S », Boivin a démontré en outre que seules les souches « S », possèdent l'antigène somatique complet, les souches « R » ne présentent qu'une endotoxine moins active, qui serait très vraisemblablement de nature protéique. Pour lui elle constituerait seule l'endotoxine « R » et serait commune aux formes « R » et « S », l'antigène somatique représentant le constituant essentiel de l'endotoxine « S ».

Action anti-infectieuse de l'anticorps « O »

Bien que le bacille d'Eberth possède un caractère particulier du fait de la présence chez lui d'un antigène spécial (antigène Vi) sur la signification duquel nous reviendrons, ce que nous allons dire de l'action anti-infectieuse des antigènes glucido-lipidiques lui est applicable ainsi qu'au Para « B ».

Les immunologistes considèrent actuellement l'antigène « O » comme seul support du pouvoir vaccinant d'un bacille. Il interviendrait en sensibilisant spécifiquement les bactéries à la phagocytose.

L'expérimentation a, en effet, montré à Boivin et à ses collaborateurs, que le sérum anti « O », (sérum préparé en injectant à l'animal des doses croissantes d'antigène glucido-lipidique) possède un pouvoir protecteur très net contre l'infection expérimentale de la souris par la souche correspondante. Il lui confère une immunité passive importante.

De même on confère aux souris une immunité active encore plus manifeste en leur inoculant des doses vaccinales d'antigène glucido-lipidique. Ces expériences, mettent donc indiscutablement en évidence, l'action anti-infectieuse de l'anticorps « O ».

Pouvoir antiendotoxique de l'anticorps « O »

Le pouvoir antiendotoxique de l'anticorps « O » se déduisait normalement de faits précédents. Une série d'expériences en a démontré la réalité.

Des animaux, immunisés par des injections progressivement croissantes d'antigène glucido-lipidique « O », supportent en fin de traitement, l'injection de plusieurs doses mortelles pour les animaux neufs.

En corollaire, les animaux immunisés passivement à l'aide de sérum anti « O », supportent également, des doses plusieurs fois mortelles de l'antigène « O » correspondant.

Mais il importe d'insister sur le fait, que comparativement au pouvoir protecteur des sérums anti-

exotoxiques, les sérums antiendotoxiques ne présentent qu'une activité relativement faible.

Toutes ces réactions d'immunité et de protection s'avèrent comme imparfaitement spécifiques, puisque l'antigène « O » du bacille d'Eberth est sérologiquement et immunologiquement impossible à distinguer de l'antigène « O » du bacille de Gartner, pourtant très différent de lui par son rôle pathogène et par ses caractères de culture. Il existe donc ici une parenté antigénique, que nous retrouvons en comparant l'antigène « O » du paratyphique « B » et celui du bacille d'Aertrycke.

CONCLUSIONS.

Nous avons vu les principales propriétés immunologiques de l'antigène « O », qu'il s'agisse de l'antigène « O » des corps bactériens, ou de l'antigène glucido-lipidique. Leur existence comme leur identité apparaît maintenant comme n'étant plus discutable, et on commence actuellement à en entrevoir la période d'application pratique.

Ces notions permettront :

1° Au point de vue strictement bactériologique, une identification et une classification très précises des groupes bactériens en fonctions de leurs caractères antigéniques.

2° Au point de vue diagnostique la stricte spécificité des souches « O » pures pathogènes existant incontestablement dans la nature peut rendre difficile l'interprétation de certains séro-diagnostic.

3° La valeur diagnostique des précipitations de solutions d'antigène, absolue en ce qui concerne les sé-

rums expérimentaux, pourrait permettre un contrôle parfait de la qualité des souches destinées à la fabrication des vaccins, ou des sérums thérapeutiques.

4° Au point de vue thérapeutique, l'existence de l'antigène « O », apparaît comme ayant une importance fondamentale dans la préparation des émulsions vaccinales.

Disons enfin que certains auteurs entrevoient même le moment, où, se passant définitivement de souches microbiennes toujours sujettes à de multiples variations, l'immunologiste et le clinicien, pourraient se servir d'antigènes chimiquement purs, qui par la constance de leur composition et de leur action permettraient d'introduire en Immunologie la notion de quantité.

Nous nous réservons de revenir plus loin sur les objections que peuvent soulever de telles hypothèses.

Antigène « H »

Comme nous l'avons dit, l'antigène « H » représente l'antigène flagellaire des bactéries mobiles.

Contrairement à ce qui se passe pour l'antigène « O », propre aux seules souches « S », l'antigène « H » se trouve aussi bien dans les souches « R » et « S » mobiles.

De nombreuses expériences prouvent la réalité de son existence. On peut s'en rendre compte aisément en pratiquant la saturation des agglutinines « O »

d'une émulsion de germe mobile. Un immunsérum préparé avec des germes mobiles est mis en présence d'une émulsion « O » pure, obtenue par chauffage des corps bactériens à 100°. Après épuisement complet des agglutinines « O », ce même sérum mis en présence d'une émulsion non chauffée, l'agglutinine encore a un taux très élevé.

Une très belle expérience d'Orcutt, apporte encore la preuve directe de l'existence d'une agglutination flagellaire pure. Par agitation et centrifugation fractionnée, cet auteur, prépare une émulsion flagellaire absolument dépourvue de corps bactériens, donc d'antigène « O ». Cette émulsion, mise en présence d'un sérum préparé avec des germes mobiles, permet de réaliser une agglutination flagellaire pure. Mise en présence d'un sérum anti « O », elle reste indifférente.

L'antigène « H » s'avère donc comme complètement distinct de l'antigène « O ».

Caractères de l'agglutination « H »

C'est à Weil et Félix que revient encore le mérite d'avoir mis ces caractères en évidence, et d'avoir précisé les modalités de l'agglutination « H ».

Elle s'oppose à l'agglutination « O » par sa *rapidité*, elle est en effet macroscopiquement évidente en moins d'une demi-heure. Très active, elle réalise des *agglutinats volumineux*, irréguliers, en flocons de neige, qui s'amassent rapidement au fond du tube.

Enfin ces agglutinats sont facilement *dissociables par agitation*.

Vue au microscope l'agglutination « H » est également très particulière. Les germes sont d'abord immobilisés, puis ils se rapprochent, formant des amas volumineux pouvant occuper tout un champ de la préparation.

Dans ces amas, les corps bactériens, restent à distance les uns des autres, et sont aisément dissociables. Ces caractères s'opposent à ceux de l'agglutination finement granulaire du type somatique, où les bacilles forment des amas compacts, presque homogènes. L'agglutination « H » est celle que l'on observe dans la très grande majorité des cas, lorsqu'on pratique le séro-diagnostic classique de Widal.

Action de la chaleur et des antiseptiques

Au contraire de l'antigène « O » l'antigène « H » est sensible à l'action de la chaleur et de certains antiseptiques. Il est détruit par chauffage à 70° et par l'action de l'alcool absolu; il disparaît dans les cultures sur gélose au phénol, mais résiste mieux que l'antigène « O » à l'action du formol. Enfin, l'anticorps « H » est thermostable, et nous retrouvons ici l'opposition qui existait entre l'antigène « O » thermostable, et son anticorps thermolabile.

De ce qui précède, on déduit aisément les difficultés auxquelles on se heurtera, dans la préparation des sérums anti « H » purs. Seules les méthodes de saturation d'agglutinines peuvent y conduire. De même, les émulsions destinées à la pratique du séro-diagnostic, comporteront obligatoirement une quan-

tité plus ou moins importante d'antigène « O », les souches « H » pures ne pouvant exister. Seule, la sélection soigneuse des souches, permettra d'obtenir des variantes ayant un taux « H » très élevé.

La culture sur milieux liquides augmente toujours la teneur en antigène flagellaire des germes mobiles, alors que l'entretien sur milieux solides finit par la diminuer par une sorte d'adaptation du germe au milieu.

Nous donnerons plus loin la technique recommandée par Félix pour la préparation des émulsions « H ».

Propriétés biologiques de l'antigène « H »

Elles sont encore fort mal connues, notamment en ce qui concerne le rôle de l'antigène « H » dans l'infection naturelle.

Tous les auteurs, à la suite d'Arkwright considèrent que les antigènes flagellaires ne jouent aucun rôle dans le pouvoir pathogène, la virulence et le pouvoir vaccinant des bactéries du groupe typhoparatyphique.

Nous ne pouvons cependant nous empêcher de remarquer que la très grosse majorité des souches que l'on isole, par hémoculture, des typhoïdes, et toutes celles que nous avons pu isoler nous-même, sont des souches mobiles, qui ont toutes présenté des taux d'agglutination « H » très élevés.

D'autre part, presque tous les sérums de malades qu'il nous a été donné d'examiner, ont constamment agglutiné les formes « H » à des taux nettement plus élevés que les formes « O ». Nous aurons d'ailleurs l'occasion de revenir longuement sur ces faits.

Spécificité de l'antigène « H »

Alors que l'antigène « O », est, nous l'avons vu, strictement spécifique du type, l'antigène « H », est susceptible de présenter des variations importantes de ses propriétés immunologiques. On lui décrit, pour une même souche, deux phases immunologiques différentes, spécifiques et non spécifiques. Ces deux phases vont se retrouver dans toutes les variétés mobiles, qu'elles soient « R » ou « S ».

Si on considère une culture d'une souche quelconque de Para B par exemple, on constate dans cette culture l'existence de deux variétés de colonies *sérologiquement* différentes.

1° Les unes dites *colonies en phases spécifiques* ne s'agglutinent que sous l'influence de l'immunsérum strictement correspondant.

2° Les autres *en phase non spécifique* s'agglutinent en présence de l'immunsérum correspondant, mais aussi en présence d'un immunsérum préparé à partir de souches de *Salmonella* voisines, elles-mêmes en phase non spécifique. Ce fait a été découvert par Andrewes en 1922.

Le tableau suivant nous donnera un type des épreuves qui servent à différencier les phases spécifiques et aspécifiques d'une même souche.

Nous y prendrons pour type le Paratyphique B et le bacille d'Aertrycke, les symboles « *as* » et « *s* » signifiant respectivement phase aspécifique et spécifique.

<i>Souches</i>	<i>Sérum</i>	<i>Agglutinations</i>
Para B <i>s</i>	Para B <i>s</i>	+
Para B <i>as</i>	Para B <i>as</i>	+
Para B <i>s</i>	Aertrycke <i>s</i>	0
Para B <i>s</i>	Aertrycke <i>as</i>	0
Para B <i>as</i>	Aertrycke <i>as</i>	+

Ces faits, si démonstratifs dans l'exemple que nous avons adopté, ne sont pas absolument généraux et disons immédiatement qu'il existe un grand nombre de *Salmonella* dont la *phase spécifique existe seule*. Les types en sont le paratyphique « A » et le bacille d'Eberth.

Enfin certaines *Salmonella* ont une structure antigénique absolument identique en ce qui concerne d'une part leur antigène « O » et, d'autre part, la phase non spécifique de leur antigène « H ». Le type en est précisément donné par le Paratyphique B et le Bacille d'Aertrycke, qui ne diffèrent sérologiquement que par les facteurs antigéniques de la phase spécifique de leur antigène flagellaire, aussi l'avons-nous volontairement pris pour exemple.

C'est alors que les auteurs ont été amenés, à la suite de Kauffmann et de ses collaborateurs, à considérer que certaines *Salmonella* (et cela parmi les plus intéressantes, telles le bacille d'Eberth) « n'étant pas diphasiques comme les autres, devaient l'être autrement ». Ils distinguent alors dans la phase spécifique du bacille d'Eberth deux phases également spécifiques. Ils les mettent en évidence dans les colonies habituelles qu'ils nomment : colonies « α » et dans des colonies rares ou colonies « β ».

Il est donc manifeste que les variations diphasiques des *Salmonella* sont inconstantes, elles n'ont du reste qu'un intérêt relatif en ce qui concerne le groupe typho-paratyphique, puisque seul le Paratyphique B les présente d'une manière constante.

Aussi faut-il savoir qu'en présence d'une culture massive de para B on se trouve en présence de deux sortes de bacilles, et avoir soin, dans la sélection de ces germes pour des recherches sérologiques, de préciser la phase à laquelle ils se trouvent. Il est malheureusement très difficile de stabiliser une souche dans une de ses phases, car, dès les premiers repiquages, apparaissent en nombre minime, des éléments de la phase que l'on voudrait éliminer.

Ces variations s'opèrent sous des influences encore mal précisées et semblent être influencées par les changements de milieu et le passage sur les animaux.

Enfin Topley et Aston d'une part, et P. B. White d'autre part, ont essayé d'établir le rôle que pouvaient jouer les variations diphasiques des germes dans leur aptitude pathogène. Les résultats obtenus par ces auteurs les ont amenés à penser que la forme spécifique serait la plus fréquemment rencontrée. Ces faits peut-être valables pour les *Salmonella* voisines des souches typho-paratyphiques, ne peuvent de toute façon être retenus que pour le Para B.

Constitution chimique de l'antigène « H »

Cet antigène paraît bien être de nature protéique, car on n'en trouve aucune trace dans les extractions

qui détruisent ou fixent les albumines. Mais rien n'est encore absolu dans ce domaine où on est réduit à des hypothèses.

L'Antigène « Vi »

C'est le plus récemment isolé des antigènes du Bacille d'Eberth. Il lui confère jusqu'à ce jour un aspect particulier, car il n'a encore été isolé avec tous ces caractères que chez lui, les paratyphiques A et B étant pour le moment considérés comme ne le présentant pas.

Toutefois des travaux récents de Kauffmann signalent que le paratyphique « C » en présenterait un antigène analogue à l'antigène « Vi ».

Historique

L'antigène « Vi » a été isolé par A. Félix et Margaret Pitt en 1934 dans certaines souches de Bacille d'Eberth.

Le point de départ des recherches de ces auteurs se trouve dans les travaux de Grinnel sur le pouvoir protecteur, pour la souris, de vaccins préparés à partir de souches fraîchement isolées de l'organisme ; ce pouvoir protecteur étant en raison directe de la présence de l'anticorps « O » et de la virulence des souches employées.

Or Félix et ses collaborateurs étudiant la valeur vaccinale d'un certain nombre de souches, ont été

frappés par le fait que certaines d'entre elles, bien que possédant l'antigène « O » restaient peu virulentes et étaient douées d'un pouvoir protecteur faible. D'autres au contraire de haute virulence, et conférant une immunité passive importante, restaient inagglutinables par le sérum « O ». Ils virent dans ce fait l'existence d'un nouvel antigène, facteur de virulence, auquel ils donnèrent le nom d'antigène « Vi ». Ils en démontrèrent la réalité par des expériences de saturation des agglutinines *in vitro*.

Injectant à des lapins des souches virulentes « O » inagglutinables, ils préparèrent un sérum dont ils saturèrent les agglutinines « O » et « H » par contact avec les émulsions correspondantes. Après saturation, ce sérum se montrait capable d'agglutiner, à des taux encore assez élevés, les souches virulentes et présentait, chez la souris, un pouvoir protecteur net contre l'inoculation de plusieurs doses mortelles de Bacille d'Eberth.

Ce fait démontrait que le pouvoir agglutinant terminal n'était pas un reliquat des agglutinines « O » ou « H » et imposait ainsi l'existence de ce nouvel antigène dont il ne restait plus qu'à définir exactement les caractères.

Définition

L'antigène « Vi » est un antigène propre à certaines souches de Bacille d'Eberth. Présent surtout dans les souches récemment isolées de l'organisme, il se définit par trois critères, :

1° *Inagglutinabilité* ou hypoagglutinabilité en présence d'anticorps « O ».

2° *Virulence élevée* entraînant un pouvoir protecteur élevé de son anticorps.

3° *Labilité extrême*. Son existence est fortement influencée par le vieillissement et par l'action de la chaleur. Il est inactivé par un seul passage au-dessous de 20° et au-dessus de 44°; seule la température de 37° est favorable à sa conservation ou permet de le récupérer lorsque les souches n'ont subi que des variations de température faibles, entre 20 et 40°.

Cet antigène revêtait donc au premier abord une importance considérable à un double point de vue :

1° Gênant l'agglutination « O », il pouvait fausser, par sa présence, l'interprétation de certains résultats, et obliger, dans la pratique du séro-diagnostic, à utiliser des températures d'incubation suffisantes pour son inactivation.

2° La valeur d'une émulsion vaccinale serait sous la dépendance directe de son aptitude à faire apparaître dans l'organisme des anticorps « Vi ».

Classification des souches en fonction de l'antigène « Vi »

Devant l'importance théorique immédiate prise par ce nouveau facteur, les auteurs étrangers et surtout Kauffmann, s'attachèrent à préciser les propriétés antigéniques du plus grand nombre possible de souches, en vue de la préparation d'émulsions vaccinales parfaites, et Kauffmann distingue, parmi les souches des typhiques, trois groupes pour lesquels il proposa la classification suivante :

1° Souche V, contenant les trois antigènes
O + H + Vi ;

2° Souches W, contenant « O » et « H » mais dépourvues de « Vi » ;

3° Souches V, W, dans lesquelles « Vi » se trouve en quantité moindre que les souches V, ainsi que le montre leur faible agglutinabilité en présence de sérum « O ».

Le passage est fréquent de la forme V à la forme W, l'inverse étant possible quoique plus difficilement réalisable.

Cette classification n'apporta d'ailleurs aucune clarté supplémentaire à la question et nous ne l'avons signalée que parce qu'elle a été adoptée par un grand nombre d'auteurs étrangers.

Conservation et entretien des souches « Vi »

D'après Félix, la labilité extrême de l'antigène «Vi» impose, pour l'entretien des souches, des précautions minutieuses. Les moindres variations de milieu peuvent, d'après cet auteur, modifier d'une manière appréciable les qualités des souches. Il recommande leur conservation en gélose peptone Lemco droite — ou en tubes inclinés de gélose préparée avec de la viande fraîche sans adjonction de peptone.

Les cultures devront être *repiquées tous les jours*, et maintenues constamment à l'étuve à 37°. Enfin, avant chaque épreuve, l'agglutinabilité de la culture sera essayée en présence d'un sérum « Vi » standard.

D'autres auteurs, Combiesco et ses collaborateurs,

Grasset et Lewin, bien que d'accord avec Félix sur la labilité de « Vi », affirment que certaines souches peuvent conserver d'une manière pratiquement indéfinie leur antigène « Vi ». C'est ainsi que Combiesco et ses collaborateurs rapportent que, sur 250 souches de typhiques provenant de la collection de l'Institut Cantacuzène, et entretenues par repiquage tous les deux ou trois mois en gélose droite, de 1913 à 1936, un certain nombre ont conservé leur caractère d'inagglutinabilité par un sérum anti « O ».

Notre pratique nous donne des résultats différents en ce sens que les souches « Vi » reçues du Lister Institute et dues à l'obligeance de A. Félix, ont perdu très rapidement, entretenues sur gélose ordinaire par repiquage bi-mensuel, leur agglutinabilité par le sérum « Vi » standard du Lister Institute, de même que leur « O » inagglutinabilité.

L'inoculation à l'animal d'une de ces mêmes souches, souche « Ty 2 », nous a donné un sérum agglutinant la souche correspondante ainsi que de nombreuses autres souches de collection à des taux variant de 1/3.000 à plus de 1/60.000. La souche 0,901 entre autres étant agglutinée à 1/3.200 et la souche (voir tableau B) Watson qui se comporte, d'après Félix, comme une souche « Vi », pratiquement pure à 1/6.400.

Il faut d'ailleurs noter qu'au cours de travaux récents Félix lui-même a modifié sa conception des caractères de l'agglutination « Vi » et des procédés de conservation des souches, pour lesquels il donne actuellement des procédés moins stricts.

Nous reviendrons plus loin sur ces procédés de con-

servation et d'entretien lorsque nous étudierons la technique du séro-diagnostic dit qualitatif.

Reconnaissant les difficultés pratiques auxquelles on se heurte lorsqu'on veut étudier un titre « Vi » en employant des sérums saturés, A. Félix propose l'utilisation dans ce but de souches particulières se comportant « pratiquement » comme des réactifs « Vi » purs.

L'emploi de ces souches permet l'application à l'étude de l'agglutination « Vi » d'une technique beaucoup plus souple et ne différant en fait de celle de Widal que par les durées d'incubation à l'étuve du mélange agglutinant.

Mais à ce propos Félix avance une proposition qui en son simple énoncé peut à juste titre paraître paradoxale. A savoir que plus une culture est riche en antigène « Vi », plus son titre d'agglutination « Vi » se trouve bas. Cette règle est reversible et exacte quel que soit le sérum, ordinaire, ou absorbé, employé.

L'auteur ne donne aucune explication de cette très curieuse anomalie disant simplement que cette relation inverse est inhérente à ce genre d'épreuve.

Il est difficile de tirer de tout ceci des conclusions formelles. Mais, on peut voir déjà, que l'extrême labilité de l'antigène « Vi » le rend d'une manipulation compliquée et oblige à des précautions dont l'intérêt pratique n'est pas à l'heure actuelle évident.

Propriétés biologiques de l'antigène « Vi »

Ici encore l'accord n'est pas absolument parfait entre les auteurs. Pour Félix, l'antigène « Vi » est

le facteur essentiel de la virulence d'une souche, et en ceci son opinion est entièrement confirmée par les travaux de Kauffmann. Mais ces deux auteurs diffèrent dans leur interprétation quant au mode d'intervention de l'antigène « Vi ». Alors que, pour Félix, il exalte le pouvoir de multiplication du germe dans l'organisme, Kauffmann le considère seulement comme un facteur de haute toxicité.

Boivin et ses collaborateurs travaillant sur des antigènes glucido-lipidiques, arrivent à des conclusions encore différentes. Pour eux, si l'antigène « Vi » est un facteur certain de toxicité, il l'est de la même façon que l'antigène « O », mais à un degré plus faible. Ces divergences ne sont point sans intérêt, car Félix a pu affirmer que la valeur d'une émulsion vaccinale se trouvait liée à la présence du seul antigène « Vi », et que la seule absence d'anticorps « Vi » expliquait l'inefficacité des sérums thérapeutiques préparés jusqu'alors. Nous aurons à revenir sur les réserves que l'on a déjà apportées à cette conception.

Nature chimique de l'antigène « Vi »

C'est encore aux très beaux travaux de Boivin et de ses collaborateurs qu'il nous faut ici faire appel.

Appliquant leur méthode à l'acide trichloracétique à l'étude des souches « Vi » et des souches « O » pures, ils ont pu extraire deux antigènes glucido-lipidiques de composition chimique différente.

Ces antigènes différents par leur teneur en polysaccharides et en acides gras, ils se comportent aussi différemment en présence de solutions d'acétate d'U-

ranyl. Ce produit précipite l'antigène glucido-lipidique « Vi » des solutions où il est mélangé à l'antigène « O », le précipité ainsi obtenu étant soluble dans l'acide citrique.

L'identité de l'antigène « Vi » de Félix et de l'antigène glucido-lipidique « Vi » de Boivin est aisément démontrable.

En effet, le sérum expérimental préparé à partir de l'antigène glucido-lipidique « Vi » est sans action sur les bactéries « O » vivantes ou chauffées; il n'agglutine pas non plus les souches « O » + « Vi », chauffées, mais agglutine parfaitement à des taux élevés les mêmes bactéries vivantes. Ces faits l'identifient donc parfaitement à l'antigène « Vi » de Félix.

Les conclusions de Boivin ont entièrement été confirmées par celles des auteurs qui ont utilisé les autres procédés d'extraction. Digestion tryptique de Topley et Raistrick, et extraction par le dyéthylène glycol de Henderson et Morgan. Cependant les propriétés biologiques du produit extrait par ces deux derniers auteurs diffèrent sensiblement de celles de l'antigène de Boivin, surtout en ce qui concerne leur toxicité, nous reviendrons sur ce point.

Propriétés biologiques de l'antigène glucido-lipidique « Vi »

Ainsi que l'on pouvait le supposer, il est toxique pour les animaux de laboratoires. Il tue la souris aux doses minima de 0 mmgr. 30 à 0 mmgr. 50 en injection intra-péritonéale, en produisant un ensem-

ble de troubles identiques à ceux que provoque l'injection d'antigène glucido-lipidique « O ». Ces doses sont donc en moyenne cinq fois plus importantes que les doses minima mortelles d'antigène glucido-lipidique « O ».

Nous avons déjà dit que ces résultats s'opposaient à ceux de Félix et de Kauffmann.

L'antigène glucido-lipidique « Vi » est strictement spécifique. Nous avons déjà vu se manifester cette spécificité dans les agglutinations par des sérums expérimentaux. De même l'antigène « Vi » précipite à hautes dilutions en présence de sérum anti « Vi » et de lui seul. La précipitation paraît ici plus rapide, et plus importante que ne l'est celle de l'antigène « O » en présence de son immunsérum.

Enfin, l'antigène glucido-lipidique, s'avère comme ayant chez la souris un pouvoir vaccinant manifeste, qui lui permet, après une immunisation prolongée, de résister à l'inoculation de doses de bacilles vivants contenant « O » et « Vi » mortelles pour les témoins. Mais Boivin et ses collaborateurs, d'accord en cela avec Topley d'une part, et Henderson d'autre part, donnent à l'antigène « Vi » isolé par voie chimique un pouvoir vaccinant inférieur à celui de l'antigène « O ». Leur opinion diffère donc complètement de celle de Félix et de Kauffman.

En conséquence de quoi, Boivin conclut dans son rapport au Premier Congrès des Microbiologistes de Langue Française :

« Tant par sa constitution chimique que par ses propriétés biologiques, l'antigène « Vi » du bacille typhique se rapproche beaucoup des antigènes « O »

« portés par le bacille typhique lui-même et par les
« autres bactéries à Gram négatif. Il convient, sem-
« ble-t-il, de ne plus continuer à placer les deux
« antigènes du bacille typhique dans deux classes
« distinctes, mais de les ranger côte à côte dans un
« même groupe, celui des antigènes « O » des bacté-
« ries au sens large du terme. Comme on le voit, le
« Bacille typhique se distingue de la grande majo-
« rité des autres bactéries à Gram négatif en ce qu'il
« peut porter à la fois deux antigènes glucido-lipi-
« diques distincts par leur spécificité. Ces deux anti-
« gènes constituent au total l'endotoxine du B. typhi-
« que, leur présence à tous les deux est nécessaire
« pour la virulence du germe, mais chacun d'eux est
« considéré à l'état isolé, semble doué d'un pouvoir
« vaccinant comparable à celui de l'antigène gluci-
« do-lipidique unique qui existe chez la plupart des
« bactéries. »

Propriétés physiques de l'antigène glucido-lipidique « Vi »

Nous serons bref sur ces propriétés qui sont cal-
quées sur celles de l'antigène « O ». Cependant un
point mérite d'être souligné : c'est l'action différente
de la chaleur sur l'antigène « Vi » de Félix et sur
l'antigène glucido-lipidique de « Vi ». *Ce dernier est
thermostable.* Après chauffage à 100° en milieu neu-
tre, l'antigène de Boivin garde sa précipitabilité et
son pouvoir antigénique intact (Boivin et L. Mesro-
béanu).

Ce fait s'oppose à la labilité de l'antigène « Vi »
des bactéries vivantes.

En conclusion nous voyons que la question de l'antigène « Vi » nous amène sur un terrain assez mouvant où s'opposent un certain nombre de faits. Cependant les problèmes soulevés par son existence et son rôle apparaissent comme très importants.

Ils mettent en question l'efficacité de la vaccination anti-typhoïdique telle qu'on la pratique depuis de longues années, et qui, il faut bien le dire, donnait une parfaite satisfaction.

Ils permettent aux protagonistes de l'antigène « Vi » d'affirmer son aptitude à produire un sérum thérapeutique d'une efficacité jusqu'alors inconnue.

Ils sont surtout à la base des reproches que l'on a faits à la séro-réaction de Widal.

Nous nous sommes borné dans tout ce chapitre à un exposé objectif des faits, en donnant à leur propos les opinions des auteurs qui ont le plus contribué à leur mise en évidence. Nous y voyons la confirmation des géniales anticipations de Nicolle sur la structure antigénique des bactéries. Cependant nous ne pouvons nous empêcher de constater que ces découvertes, pour intéressantes et importantes qu'elles soient, nous éloignent de plus en plus du domaine de la clinique. La complexité de la technique bactériologique qu'elles mettent en œuvre, la ténuité de certaines théories et le caractère simplement négatif qui en définit d'autres; leur opposition avec des faits que l'expérience de plus d'une quarantaine d'années, avait accoutumé à considérer comme acquis, permettent au clinicien de les accueillir avec un intérêt qu'atténuera malgré tout une certaine réserve.

CHAPITRE TROISIEME

TECHNIQUE DU SERO-DIAGNOSTIC ANTIGENIQUE DES AFFECTIONS TYPHO-PARATYPHIQUES

En se basant sur l'ensemble de travaux que nous venons d'exposer et sur un certain nombre de publications faisant ressortir ce qu'on a appelé les défaillances du séro-diagnostic de Widal, Félix et ses collaborateurs ont apporté d'importantes modifications à la technique du séro-diagnostic des affections typho-paratyphiques. Elles sont actuellement utilisées surtout à l'étranger, dans divers Instituts bactériologiques.

Ces modifications portent, d'une part sur le mode de préparation des émulsions microbiennes, d'autre part sur la durée de la réaction et les températures nécessaires.

Sur ces questions, se branche tout naturellement celle des sérums agglutinants nécessaires à l'identification des souches.

Nous devons à l'obligeance de M. R. Dujarric de la Rivière les détails de ces techniques qui ont été

précisées au cours d'une Conférence internationale qui s'est tenue à Londres en novembre 1937.

Le principe général de la méthode consiste :

1° A mettre en évidence et séparément, les agglutinines « O », « H » et « Vi ».

2° A utiliser uniquement des souches tuées, stabilisées dans leur agglutinabilité et leur caractère antigénique, standardisées, quant à leur taux d'agglutination, par rapport à un sérum expérimental étalon.

3° A uniformiser les résultats qui seraient toujours énoncés en fonction du taux de l'agglutination standard correspondante.

Nous exposerons successivement :

1° Les techniques de préparation et de standardisation des émulsions.

2° La technique même du séro-diagnostic.

TECHNIQUE DE PREPARATION ET DE STANDARDISATION DES EMULSIONS

Souches

Choix des souches

Quel que soit le type d'émulsion que l'on désire préparer il se déduit aisément de ce que nous avons dit des caractères antigéniques des bacilles typhoparatyphiques, que l'on devra éliminer définitivement toutes les souches de type « R ». Le fait qu'elles sont auto-agglutinables suffit à les faire écarter.

On utilisera donc, à l'exclusion de toutes autres, les souches de type « S ». Cependant, il importera, avant de fixer son choix d'une manière définitive, de préciser, par une observation prolongée des cultures, qu'elles n'ont pas de tendance à se dissocier et à présenter des formes « R S ». On y parviendra aisément en suivant l'évolution de colonies séparées.

Ces faits sont valables qu'il s'agisse de l'antigène « O » ou de l'antigène « H ».

Conservation des souches

La conservation de la souche ainsi isolée impose des précautions particulières dont Félix a précisé le détail.

Les souches destinées à la collection, mises en tubes scellés ou paraffinés, pourront être gardées sans altération pendant des années à la température ordinaire et à l'obscurité.

La composition du milieu a une importance fondamentale.

Voici la formule préconisée par Félix :

Agar agar en poudre	20 grammes
Bactopeptone	10 grammes
Extrait de viande (Lab. L) ...	10 grammes
Eau	1000 cc.

Ce milieu ne comporte pas de bouillon de viande fraîche de façon à éliminer la présence de substances fermentescibles.

Chauffer, dans un courant de vapeur, pendant 30 minutes, ajouter 12 cc³ de soude N/1. Refroidir à 60°. Ajouter deux blancs d'œuf. Chauffer à nouveau jusqu'à transparence complète du milieu. Filtrer sur

molleton; ajouter à pH 7,4. Répartir en tubes droits. Stériliser par autoclavage à 120° pendant 30'.

Les tubes ainsi préparés seront conservés un certain temps avant d'être utilisés. Il y aurait avantage à les autoclaver à nouveau avant l'emploi, et à les conserver à l'étuve afin d'éliminer complètement l'eau de condensation pour l'entretien des souches « O ». La présence de cette eau de condensation est au contraire utile aux cultures des souches « H » et de la majorité des souches « Vi ».

L'ensemencement de ces milieux se fera par piqûres profondes.

Avant d'ensemencer un lot de tubes, Félix recommande encore d'étudier à nouveau les caractères de la souche en faisant des colonies séparées sur plaque de gélose. Ces colonies reprises subiront les épreuves classiques qui permettront d'affirmer leur caractère lisse parfait, et leur agglutinabilité sera vérifiée par rapport à un sérum étalon.

Pour les souches à l'étude ou d'usage journalier les passages se feront simplement en surface sur gélose inclinée et préparée avec du bouillon de viande fraîche.

Préparation des émulsions

Emulsions destinées à l'agglutination « H »

Ces émulsions pourront être préparées soit à partir des tubes de bouillons, soit à partir de cultures sur gélose.

ÉMULSION EN BOUILLON FORMOLÉ.

On choisira naturellement une souche de bacilles très mobiles et il serait même recommandable de fixer son choix sur une souche « O » inagglutinable qui peut alors contenir l'antigène « Vi » qui, dans ce cas, ne sera pas gênant.

Des colonies séparées sont obtenues par culture sur gélose inclinée. Six au minimum de ces colonies sont semées séparément en bouillon de veau et parallèlement sur gélose inclinée. On laisse les tubes ainsi ensemencés à l'étuve à 37° pendant 18 à 24 heures.

Les cultures en bouillon sont ensuite réparties dans des tubes de diamètres approximativement égaux. On les dilue ensuite, à l'aide d'eau physiologique formolée à 2 %, jusqu'au moment où elles présentent une opacité comparable à celle d'une émulsion étalon.

L'agglutinabilité de ces émulsions en présence d'un sérum « H » est alors comparée à celle de l'émulsion-étalon. Elle doit être, d'après les règles énoncées par Félix, au moins égale à la moitié de celle de l'émulsion type, et au maximum supérieure au double, ce qui permet des variations de l'ordre de 1 à 4.

On ne conservera que les échantillons répondant à ces conditions, et si aucun tube de culture ne donne d'agglutination de l'ordre prescrit, l'épreuve sera reprise avec un nouveau lot de colonies, ou avec une autre souche.

Lorsqu'on a obtenu et éprouvé une colonie répondant aux caractères prescrits, il reste à préparer une

quantité suffisante d'émulsion pour constituer une provision.

On s'adresse alors au tube de gélose correspondant à la colonie choisie, et l'on ensemence à partir de lui de larges flacons d'Erlenmeyer remplis aux deux tiers seulement de bouillon de veau.

Ces flacons seront laissés à l'étuve à 37° pendant 24 heures. Au bout de ce temps, leur contenu sera additionné de 0,2 % de formol, soit 2 cm³ de formol du commerce pour un litre. Ils seront ensuite conservés à la température ordinaire et à l'obscurité pendant trois jours. La suppression de toute croissance par l'adjonction du formol sera alors vérifiée par quelques repiquages. La stérilité de l'émulsion étant certaine on la transvase par siphonage dans des flacons stériles et l'opacité de l'émulsion est évaluée par rapport à des tubes d'opacité connue.

On ramènera, par dilution dans de l'eau physiologique stérile, la concentration de l'émulsion au taux définitivement choisi. Ce taux doit être compris entre les chiffres extrêmes de 500 et 800 millions de germes au centimètre cube selon la technique que l'on emploiera pour le séro-diagnostic. Ces concentrations sont celles qui ont, empiriquement, paru les plus favorables.

En résumé, cette préparation comporte deux temps essentiels :

- 1° Temps de sélection d'une colonie satisfaisante.
- 2° Temps d'étalonnage de la densité de l'émulsion.

EMULSION FORMOLÉE PRÉPARÉE A PARTIR DE CULTURES
SUR GÉLOSE.

Dans ce cas, le temps de sélection de la souche est le même que précédemment.

La souche choisie est semée sur boîtes de Roux et laissée à l'étuve à 37° pendant 24 heures.

La culture est alors émulsionnée dans une solution tampon stérile ajustée à pH 7,6 et formolée à 0,2 %. La formule de cette solution est la suivante :

Phosphate disodique	10 gr. 1
Phosphate monopotassique	1 gr. 4
Chlorure de sodium	3 gr. 4
Formol du commerce à 40 %...	2 cm ³
Eau distillée	1 litre.

L'émulsion est introduite par siphonnage dans un flacon stérile puis conservée à la température du laboratoire et à l'obscurité pendant trois jours. La suppression de toute croissance ayant été vérifiée comme précédemment, on ajustera, par dilution avec de la solution tampon, l'opacité de l'émulsion à celle d'un tube étalon.

L'emploi du formol comme antiseptique est actuellement le seul recommandable pour les suspensions « H ». On sait, en effet, qu'il négative d'une manière importante l'agglutination « O ». Craigie explique ce fait par une ingénieuse hypothèse. Le formol durcissant les cils entraverait les agglutinations somatiques d'une manière purement mécanique, les cils formolés empêchant le contact des corps bactériens.

On peut, enfin, à titre d'antiseptique supplémentaire, ajouter 0,2 % de chloroforme qui n'entrave en rien l'agglutination « H ».

Emulsions destinées à l'agglutination « O »

Le mode de préparation des émulsions « O » des bacilles typho-paratyphiques dérive de celle, établie en 1917, par Bier et Sontag, pour l'agglutination du *Proteus* X. 19.

Le temps de sélection des colonies diffère, par quelques points, de celui que nous avons indiqué pour les suspensions « H ».

Des cultures sur gélose inclinée, en tubes de 18 mm., obtenues à partir de souches sélectionnées et donnant un taux d'agglutination « O » satisfaisant, sont repiquées pour obtenir une culture de 24 heures sur des tubes de gélose inclinée. La culture ainsi obtenue est émulsionnée dans 2 cc³ d'eau physiologique stérile, et chaque émulsion est transvasée dans un tube contenant des perles de verre et 8 cc³ d'alcool à 96°. Ces tubes, soigneusement bouchés, sont conservés à la température du laboratoire et à l'obscurité et agités de temps en temps. Au bout de 24 heures, les suspensions alcooliques, ainsi obtenues, sont centrifugées, et le culot est lavé, à plusieurs reprises, dans de l'eau physiologique stérile.

Ce culot lavé et débarrassé d'alcool est mis en suspension dans la solution formolée tampon dont nous avons donné la composition plus haut. La concentration de ces émulsions est ajustée à celle d'une émulsion-étalon. Elles sont alors éprouvées séparément en présence d'un sérum « O » étalon.

La culture correspondant à la colonie ainsi choisie est largement semée en boîte de Roux, et sera traitée pour faire une provision d'émulsions, exactement

comme l'a été l'échantillon d'essai. Il faudra 60 cc³ d'eau physiologique pour émulsionner le contenu d'une boîte de Roux et 40 cc³ d'alcool à 96° pour traiter cette émulsion.

Il sera bon ici de maintenir, pendant 48 heures, le contact avec l'alcool.

ÉMULSIONS FORMOLÉES DE CULTURES DE VARIANTES « O » PURES.

Il importe avant tout de savoir que les variantes « O » pures du groupe typho-paratyphique sont extrêmement rares. Il n'existe à l'heure actuelle que deux souches isolées de ce type, la souche 0901 du Bacille d'Eberth, de Félix et une variante « O » stable de la souche de Glasgow du bacille d'Aertrycke, isolée par Shutze en 1930, et que l'on utilise comme antigène « O » du Para B dont aucune variante « O » n'a encore été isolée.

Lorsque l'on dispose d'une de ces deux souches, on peut, par le procédé décrit pour la préparation des émulsions « H », obtenir des émulsions « O » pures absolument parfaites.

Certains auteurs ont proposé de préparer des émulsions « O » à partir de souches banales mobiles cultivées sur gélose phéniquée à 0,2 %. Dans ces cultures, les bacilles perdent leur mobilité. Néanmoins, l'expérience montre qu'ils possèdent encore des quantités importantes d'antigène « H » pouvant masquer complètement l'agglutination « O ».

D'autre part, les germes provenant de cultures phéniquées seraient susceptibles de s'agglutiner spontanément en présence de solutions même faibles d'électrolytes.

Emulsions destinées à l'agglutination « Vi »

Les souches pouvant servir aux agglutinations « Vi » sont, d'après A. Félix, extrêmement peu nombreuses. Cet auteur, après des études portant sur un très grand nombre de souches, considère que trois seulement parmi les échantillons éprouvés donnent satisfaction et présentent les caractères de stabilité refusés aux autres souches proposées comme réactif « Vi ». Ces trois souches sont : la souche « Ty-2 »-« Watson » et « Ty 6 S », isolées et étudiées par Félix et ses collaborateurs. Tout récemment une autre souche « Vi » pure « Souche « Vi-I » a été isolée par Bhatnagar aux Indes. Nous n'avons malheureusement pu encore nous la procurer.

Nous résumerons rapidement les principaux caractères de ces trois souches qui sont à la base de tous les travaux immunologiques concernant l'antigène « Vi ».

LA SOUCHE « TY 2 ».

Elle a été isolée en 1918 ; elle se présente comme une souche « S » typique et contient les trois antigènes « Vi », « O » et « H ». Elle a pour caractéristiques essentielles : son « O » inagglutinabilité relative, sa très grande virulence, et son aptitude, remarquablement stable, à produire l'antigène « Vi » à son taux maximum par simple entretien sur gélose inclinée. Cette souche aurait constamment conservé cette propriété pendant 20 ans sans avoir subi un seul passage à travers l'animal ou sur les milieux à l'ascite ou à l'œuf qui seraient les plus favorables au maintien ou à la régénération de l'antigène « Vi ».

LA SOUCHE WATSON.

Isolée en 1932, elle se présente comme une souche « S » et contient avant tout l'antigène « Vi ».

Les antigènes « O » et « H » s'y trouvent à des titres faibles. Cette souche, pratiquement inagglutinable par « O », est stable dans sa teneur en antigène « Vi ». Étudiée par rapport à la souche « Ty 2 », sa richesse en antigène « Vi » et par suite sa virulence, sont sensiblement plus faibles. Néanmoins, les titres « Vi » obtenus avec la souche Watson sont, d'après Félix, trois fois plus élevés que ceux obtenus avec la souche « Ty 2 » ⁽¹⁾. Aussi Félix la proposa-t-il comme souche type pour les épreuves d'agglutination « Vi ».

LA SOUCHE TY 6 S.

Isolée en 1936, cette souche se présente du point de vue antigénique comme une variante de « R ». Elle serait donc dépourvue d'antigène « O », mais se comporterait, par certains points, comme une souche « S » d'où le terme de « half smooth form » proposé par Scholtens, en 1937, pour désigner cette variante.

Dépourvue d'antigène « O », cette souche est également dépourvue d'antigène « H » et ne donne aucune agglutination en présence d'un sérum « H » pur, bien que, inoculée au lapin, elle fasse apparaître chez lui, en même temps que l'anticorps « Vi », une petite proportion d'anticorps « H » (Félix).

Cette souche peut donc être considérée comme un

(1) Cette contradiction serait expliquée par le fait que plus une souche est riche en antigène « Vi », moins les titres « Vi » obtenus par agglutination de cette souche sont élevés (voir page 49).

réactif « Vi » pur. Elle présente cependant, comme « Ty 2 », l'inconvénient d'une faible sensibilité à l'agglutination « Vi ». Cette sensibilité est, ici encore, environ trois fois moindre que celle de la souche Watson. Aussi Félix conclut-il qu'il faut réserver cette souche à des épreuves de contrôle toujours pratiquées parallèlement aux épreuves utilisant la souche Watson.

ENTRETIEN ET CONSERVATION DES SOUCHES « Vi ».

Les milieux utilisés sont les mêmes que ceux dont nous avons donné la composition pour les souches « H » et « O », et la même distinction doit être faite en ce qui concerne les tubes de gélose droite, et les tubes de gélose inclinée. Mais alors que les souches « Ty 2 » et Watson seront semées sur des tubes riches en eau de condensation, la souche « Ty S. 6 » ne sera repiquée que sur des géloses bien sèches.

La température d'incubation sera de 37° et, étant donné la très grande labilité de l'antigène « Vi », la durée des manipulations faites à la température du laboratoire sera toujours réduite au minimum.

Entretenues ainsi ces cultures peuvent conserver leurs propriétés pendant plusieurs mois.

PRÉPARATION DES ÉMULSIONS.

On peut utiliser comme émulsion soit des cultures fraîches, vivantes, de 24 heures, soit des cultures de 24 heures stabilisées par adjonction de 0,2 % de formol qui pourraient conserver leur « O » inagglutinabilité et leur sensibilité à l'anticorps, « Vi » pendant six mois. Dans le choix des colonies destinées à la

préparation de ces émulsions, il importe de choisir, sur des colonies séparées, celles qui, à la lumière transmise, se montrent les plus opaques. Elles correspondent, en effet, aux bactéries qui présentent la plus haute teneur en antigène « Vi ».

TECHNIQUE DU SERO-DIAGNOSTIC QUALITATIF

GENERALITES

Cette technique minutieusement réglée comporte trois indications principales :

1° Les émulsions spécifiques différentes seront utilisées pour la recherche des agglutinines « O », « H » et au besoin « Vi ».

2° Les suspensions doivent être tuées et conservées; leur taux d'agglutinabilité doit être conforme à celui d'une émulsion-étalon.

3° La température d'incubation doit être de 50 à 52° dans un thermostat à eau. Le niveau de ce thermostat doit être réglé de telle sorte qu'il recouvre deux tiers seulement du liquide contenu dans les tubes d'agglutination.

Il faut immédiatement attirer l'attention sur un fait important : Il importe d'employer des sérums ne présentant aucune trace de coloration par l'hémoglobine. En effet à cette température la suspension bactérienne peut être agglutinée de façon non spécifique par les produits de transformation de l'hémoglobine. On éliminera donc soigneusement tout échantillon de sérum présentant un degré quelconque d'hé-

molyse. On recourra, dans ce cas, à l'agglutination de germes vivants.

A côté de ces indications essentielles, les auteurs attachent peu d'importance au volume total du mélange agglutinant, aux proportions en volume de la dilution de sérum étudié et de l'émulsion, à l'emploi de pipettes graduées ou de pipettes compte-gouttes, etc...

Durée d'incubation pour les suspensions « H »

Elle doit être de deux heures, la lecture finale de la réaction devant se faire dans les 10 minutes qui suivent la sortie des tubes hors du bain-marie.

Cependant l'examen des tubes avant ce temps pourra déjà donner des indications, surtout si le sérum contient des agglutinines communes à plusieurs variétés de germes.

Durée d'incubation pour les émulsions « O »

Elle sera de 24 heures. La lecture finale de la réaction sera faite dans l'heure qui suit la sortie des tubes du bain-marie. Un examen plus précoce pourra être fait au bout de quatre à cinq heures et donner, dès ce moment, des indications utiles.

Interprétation des résultats

La lecture finale sera toujours faite à l'œil nu ou à la rigueur à la loupe, à la lumière artificielle et sur fond noir; l'examen microscopique ne sera jamais utilisé.

On tiendra grand compte du mode de formation des agglutinats, de leur volume et de la vitesse de leur formation. On ne confondra pas, avec une ag-

glutination, la simple sédimentation des bactéries au fond du tube. Par agitation, elles se remettront en suspension donnant des ondes moirées, absolument significatives d'une réaction négative.

Tous les tubes seront examinés comparativement au tube ne contenant que de l'émulsion. Nous empruntons à R. Dujarric de la Rivière le tableau suivant qui caractérise les différences opposant les agglutinations « H » et « O » :

<i>Agglutination « H »</i>	<i>Agglutination « O »</i>
Se produit rapidement.	Se produit lentement.
Dépôt rapide.	Dépôt lent.
Agglutinats volumineux et de tailles différentes.	Agglutinats fins et de taille uniforme.
Sédiment volumineux.	Sédiment peu abondant.
Liquide surnageant trouble.	Liquide surnageant clair.
Sédiment facilement dissociable par agitation.	Sédiment difficilement dissociable.

Recherche de l'agglutination « Vi »

Elle se fera en utilisant soit, et de préférence, une émulsion d'une culture vivante de 24 heures, ou une émulsion formolée de la même culture. Cette culture sera une souche « Vi » stable. La souche Watson est celle qui remplit le mieux cette condition.

L'émulsion initiale sera deux fois plus riche en germes que celle employée dans la recherche des agglutinations « O » ou « H ». Cette nécessité répond au fait que, dit Félix, « environ la moitié des ger-

mes contenus dans le mélange agglutinant est floculée par l'anticorps « H » qui est habituellement présent dans le sérum. Aussi le liquide surnageant après l'agglutination « H » est-il encore suffisamment trouble pour permettre une appréciation, à l'œil nu, de l'éclaircissement dû à l'agglutination « Vi ».

Une telle lecture n'est évidemment possible que pour un œil spécialement exercé.

Le mélange agglutinant sera placé au thermostat à 37° pendant deux heures.

La lecture finale sera faite à l'œil nu, après 20 à 22 heures à la température du laboratoire.

Les témoins seront faits en solution de chlorure de sodium à 0,04 %, à 0,85 %, à 2,5 % et à 5 %.

CHAPITRE QUATRIEME

CONSIDERATIONS CRITIQUES SUR L'IMPORTANCE PRATIQUE DE LA DISSOCIATION DES ANTIGENES DES BACILLES DU GROUPE TYPHO-PARATYPHIQUE

Généralités

Il ressort de tout ce que nous avons exposé au cours des précédents chapitres que les conceptions immunologiques classiques de la fièvre typhoïde devraient être révisées. C'est à ce but que tendent un très grand nombre de travaux, pour la majorité étrangers.

Il n'apparaît pas à première vue que les travaux dont nous avons parlé, puissent avoir, au moins immédiatement, de sanction pratique. Pour intéressants qu'ils soient, ils ne nous ont pas paru pouvoir, actuellement, sortir du domaine du laboratoire et de l'expérimentation. Bien des points sont, en effet, encore obscurs, et toutes ces techniques ne nous ont pas donné dans leur application à la clinique, les satisfactions que l'on était en droit d'en attendre.

Le point de départ de ces travaux se trouve uniquement dans l'étude de souches de collections, et de sérums expérimentaux. Enfin, si on considère l'histoire de la question, on constate que l'origine de toutes ces recherches réside dans les caractères de l'agglutination du *Protéus*, utilisé pour le diagnostic du typhus exantématique. Or, on ne peut considérer la réaction de Weil-Félix que comme l'aboutissant d'une heureuse série de hasards qu'ont rendu utilisables les très remarquables observations de ses promoteurs. Personne n'a pu jusqu'à maintenant, malgré le nombre de théories proposées, trouver de rapport irréfutable entre le typhus d'une part et les agglutinations du *Protéus* d'autre part. Il ne s'agit pas là d'un cas exceptionnel en Biologie, et on est obligé d'admettre que seule une parenté antigénique fortuite a permis d'établir un séro-diagnostic du typhus utilisant un germe n'ayant avec lui aucun rapport étiologique.

En ce qui concerne la fièvre typhoïde, il en est tout autrement, on utilise dans ce cas, comme réactif, l'agent même de la maladie, et on met en jeu, pour le séro-diagnostic, un mécanisme immunologique extrêmement précis, et dont la régularité consacre la valeur.

Or, il nous est apparu que la dissociation très poussée des facteurs antigéniques nous amenait à une complexité des réactions immunologiques, qui par un curieux détour, aboutit à une atteinte du dogme de la spécificité des antigènes.

De plus on en était conduit à envisager la possibi-

lité fréquente, d'exception à des règles que l'on avait considérées jusqu'alors, avec pleine satisfaction, comme constantes.

Il a paru plus important de confronter, avec autant de précision que possible, ces conceptions récentes, toutes nées dans le laboratoire, avec les données de la clinique.

Nous basant sur notre expérimentation qui porte, d'une part sur l'étude d'une soixantaine de sérums de malades, et de sérums expérimentaux, d'autre part sur l'étude des caractères immunologiques de souches isolées par hémoculture. Nous essayerons de préciser ce que l'on peut actuellement attendre au point de vue pratique de la dissociation des antigènes des bacilles typho-paratyphiques, et du séro-diagnostic, dit qualitatif, de la fièvre typhoïde.

ETUDE COMPARATIVE DES DIFFERENTS PROCEDES DE SERO-DIAGNOSTIC

Notre travail porte :

— Sur l'examen de 56 sérums de malades prélevés au cours de fièvres typhoïde et paratyphoïde bactériologiquement confirmées;

— Sur l'étude des caractères sérologiques de 14 souches de bacilles typhiques et de paratyphiques isolées par hémoculture, au cours de ces deux dernières années, et de 10 souches de collection ;

— Sur un certain nombre de sérums expérimentaux préparés par nous-même ou dus à l'obligeance

de différents services de l'Institut Pasteur et du Lister Institute.

Technique

Pour tous les sérums de malades que nous avons examinés, nous nous sommes imposé les épreuves suivantes :

a) Séro-diagnostic classique de Widal pratiqué avec des souches de collection;

b) Séro-diagnostic qualitatif de Félix pratiqué avec les souches standard du Lister Institute;

c) Réaction de précipitation en utilisant des antigènes glucido-lipidiques, mis à notre disposition par A. Boivin.

Ayant été amené, au cours de ces recherches, à adopter quelques petites modifications aux techniques classiques nous donnerons avant tout, le détail des procédés auxquels nous sommes fixés.

Technique du séro-diagnostic de Widal

a) CARACTÈRES DES SOUCHES UTILISÉES :

Dans la recherche de l'agglutination selon le procédé de Widal, nous avons constamment utilisé trois souches, désignées par les symboles :

a T 3 pour le Bacille d'Eberth ;

a A 1 pour le para A ;

a B 3 pour le para B ;

Nous donnerons d'abord les caractères morphologiques et sérologiques de ces souches.

Souche a T 3 :

Cette souche, qui appartient à la collection de l'Institut Pasteur, est entretenue depuis de longues années sur milieux artificiels.

Morphologiquement : souche très mobile de type « S » ne présentant que peu de tendance à se dissocier en formes « RS » et « R », mais donnant facilement, en culture âgée, des formes d'involution, surtout des formes longues.

Caractères sérologiques : Sérologiquement, elle se comporte comme une forme mixte banale contenant les antigènes « H » et « O » et dépourvue de l'antigène « Vi ».

Mise en présence de sérums expérimentaux délivrés par le Service des standards du Lister Institute, elle a donné les titres d'agglutination suivants :

Sérum « H » = positif de 1/25000 ;

Sérum « O » = positif de 1/1600 ;

Sérum « Vi » = négatif ;

Sérum « Vi » + « O » + « H » = positif à 1/6400.

Mise en présence de sérums préparés par nous-même à partir des souches du Lister Institute :

Sérum 0901 = positif à 1/1600.

Sérum H901 = positif au delà de 1/25.000;

Sérum « Ty2 » (« Vi » + « O » + « H ») = positif au delà de 1/25.000 ;

Sérum agglutinant du Laboratoire des Vaccins de l'Institut Pasteur = positif à 1/25.000.

Dans deux cas où l'agglutination « O » a été recherchée, elle a été mise en évidence avec ses caractères classiques.

Avec tous les autres sérums l'agglutination a revêtu le type flagellaire.

SOUCHE « A B 3 » (PARATYPHIQUE B).

Il s'agit d'une souche de collection entretenue par repiquages fréquents sur milieu ordinaire.

Souche très mobile, elle se présente sous une forme « S » pratiquement stable.

Eprouvée vis-à-vis des sérums expérimentaux délivrés par le Lister Institute, elle a donné les titres d'agglutination suivants :

Sérum Aertrycke (antigène « O ») + 1/4.000;

Sérum « H B 3 » (antigène « H ») + 1/8.000.

Il s'agit donc d'une souche « H » + « O » présentant, par ailleurs, des caractères d'agglutination classiques.

SOUCHE (a A 1).

C'est encore une souche de collection du type « S » parfait et stable.

N'ayant pas eu l'occasion d'étudier de sérum provenant de paratyphoïde « A » nous n'avons point précisé ses caractères antigéniques.

ENTRETIEN DES SOUCHES.

Ces souches ont constamment été entretenues en séries doubles sur gélose inclinée ordinaire. Une série de tubes servant aux épreuves d'agglutination quotidienne, la seconde série étant destinée à la collection.

Chaque repiquage a été fait à partir d'une colonie isolée présentant des caractères morphologiques « S » parfaits.

Toute souche destinée à des épreuves d'agglutination a toujours été repiquée deux fois en 48 heures de façon à n'utiliser, selon le conseil de M. Nicolle, que des cultures petites-filles.

CONDUITE DU SÉRO-DIAGNOSTIC.

a) *Préparation des émulsions.*

La culture destinée à la préparation de l'émulsion est semée, en tubes de 22 mms, sur gélose fraîche, contenant toujours de l'eau de condensation.

La culture est émulsionnée dans le tube même de gélose à l'aide d'eau physiologique à 8 0/00. Pour éviter d'entraîner par râclage des débris de gélose, nous nous servons, pour émulsionner, d'une pipette Pasteur dont le bout est courbé sur 1/2 centimètre à la petite flamme du bec Bunsen.

L'émulsion épaisse ainsi obtenue, est brassée énergiquement dans le tube jusqu'à homogénéité parfaite; un brassage suffisant rend inutile le filtrage de l'émulsion sur coton, et, du reste, on obtient toujours aisément une émulsion dépourvue de tout flocon lorsque l'on s'adresse à des souches bien lisses, toujours facilement émulsionnables.

On prélève ensuite avec la pipette qui a servi à l'émulsion environ 4 à 5 cm³ de l'émulsion épaisse que l'on verse, goutte à goutte, dans un tube d'eau physiologique en agitant constamment. On ajuste l'opacité de l'émulsion définitive à celle d'un tube étalon contenant environ 20 millions de germes au centimètre cube.

b) *Mélange agglutinant.*

On fait dans des tubes à hémolyse les dilutions de

sérums suivantes : 1/20, 1/40, 1/80, etc., en doublant chaque fois.

La réaction est disposée comme suit :

a) tube I : eau physiologique : 0 cc³ 9;

sérum à éprouver : 0 cc³ 1;

tube II, III, IV, etc. : eau physiologique: 0 cc³ 5.

Le tube I contient donc une dilution de sérum à 1/10. On prélève 0 cc³ 5 de cette dilution qu'on porte dans le tube II.

Après brassage on porte 0 cc³ 5 du tube II dans le tube III et ainsi de suite jusqu'au moment où on a obtenu la limite que l'on désire atteindre.

b) On ajoute, à chaque tube de dilution, 0 cc³ 5 d'émulsion. Les dilutions finales ainsi obtenues sont de 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, etc..., et correspondent à une opacité de 10.000.000 de germes par cc³.

c) Les tubes sont placés à l'étuve à 37° et y sont laissés pendant 1/2 heure.

d) La lecture est faite au microscope sur des gouttes placées entre lame et lamelle et examinées dans le quart d'heure qui suit leur préparation.

Nous nous sommes toujours bien trouvé de la règle qui consiste à faire deux témoins :

Le premier contient l'émulsion seule coupée de son volume d'eau physiologique.

Le second est fait avec une dilution égale à la moitié de la dilution maxima d'un sérum expérimental donnant avec la souche utilisée une agglutination nette. Ceci dans le but de nous assurer que l'agglutinabilité de notre souche ne s'est pas modifiée.

Technique du « séro-diagnostic antigénique »

Nous nous sommes, dans leurs lignes générales, soumis aux règles énoncées par Félix, et nous sommes servi, dans nos recherches, des souches préconisées par cet auteur et que nous devons à son obligeance.

Pour le Bacille d'Eberth :

Souche H 901 pour la recherche de l'anticorps « H »

— O 901 — — « O »

— Waston — — « Vi »

— Ty 6 S — — « Vi »

— Ty 2 contenant « O + H + Vi ».

Pour le Para B :

Souche H B 3 pour la recherche de l'anticorps « H »

— Aertrycke — — « O »

Nous avons été amené à renoncer à l'usage du thermostat à eau qui, à l'usage, s'est révélé une complication inutile. Nous disposions cependant de deux thermostats à toits pointus préconisés par les auteurs étrangers. En effet, malgré le toit pointu, il arrive que l'eau de condensation du thermostat retombe dans les tubes, faussant ainsi la réaction; et d'autre part le bouchage des tubes au coton cardé supprime l'avantage qu'il y aurait à travailler en atmosphère humide. Aussi utilisons-nous, actuellement, une étuve ordinaire, sans noter dans la marche des agglutinations, des modifications appréciables.

Nous avons employé la même technique de dilution que précédemment.

Technique du précipito-diagnostic

L'idée d'utiliser la précipitation des antigènes glucido-lipidiques pour l'identification sérologique de sérum de malades revient à MM. Ciuca, L. Mesrobianu, A. Badenski et C. Munteanu. Ces auteurs ont utilisé, dans leurs essais pratiqués en 1938, des sérums de typhus exanthématique et des antigènes glucido-lipidiques extraits des souches « OX 19 », « OXK » et « OX2 ».

Nous avons essayé d'établir, à partir de sérums de malades atteints d'infection typique et d'antigènes glucido-lipidiques « O » et « Vi », la mesure dans laquelle cette méthode pourrait contribuer au diagnostic de la fièvre typhoïde.

Des tentatives avaient déjà été faites dans ce sens, par Tulasne, dans un certain nombre de cas où manquaient les agglutinations antigéniques dissociées correspondantes.

Nous avons utilisé pour ces réactions une série d'antigènes glucido-lipidiques mis à notre disposition par A. Boivin. Ces antigènes étant en solution aqueuse aux taux respectifs de 1/1000, 1/10.000, 1/100.000 sous le volume de 0 cc³, 9.

Ces dilutions sont mises en présence de 0 cc³,1 du sérum à examiner.

Le mélange est laissé à l'étuve à 52° pendant deux heures, temps au bout duquel on pratique une première lecture, la lecture définitive étant faite après 20 à 22 heures de séjour à la température de laboratoire.

Nous n'avons considéré comme résultats positifs

que les précipités francs, nettement visibles à l'œil nu sur fond noir.

Les autres techniques essayées : dilution successive de sérum en présence d'un poids fixe d'antigène; dilution d'antigène plus rapprochée, ne nous ont pas donné de résultats aussi nets. Nous n'avons pas essayé la technique préconisée par Tulasne qui consiste à lire l'opacification du mélange précipitant au photomètre de Vernes, car le milieu dans lequel on opère est naturellement un milieu trouble du fait de la nature même des solutions d'antigènes glucido-lipidiques. D'autre part, un résultat franchement positif se traduit, toujours par le dépôt d'un précipité cohérent dans le fond du tube, et donne par suite, au lieu d'une opacification, une limpidité plus grande du liquide surnageant. Enfin, la netteté du précipité, dans les réactions positives, est toujours suffisante pour être appréciée directement et très simplement.

— Pour chaque série de précipitations nous nous sommes adressé à deux types d'antigènes glucido-lipidiques d'origine différente, mais sérologiquement identiques et y avons ajouté un témoin préparé avec un antigène glucido-lipidique de bacille dysentérique de Shiga. L'exemple suivant donnera un schéma de notre protocole.

— Le précipito-diagnostic d'un sérum de typhique sera pratiqué avec :

antigène « O » du Bacille d'Eberth ;

— « O » du Bacille de Gartner ;

— « Vi » du Bacille d'Eberth ;

— « O » du Bacille de Shiga servant de témoin.

— Ainsi ces séries différentes se contrôleront les unes par les autres et leur nombre n'entraînera aucune complication technique spéciale.

RESULTATS

Etude comparative de sérums expérimentaux

La préparation de sérums expérimentaux est à la base de toute tentative d'identification sérologique. Aussi avons-nous préparé et étudié comparativement un certain nombre de sérums. Parmi ceux-ci, les uns proviennent du laboratoire du Lister Institute, d'autres ont été préparés par nous-même, à partir de souches sélectionnées. D'autres enfin sont des sérums préparés à partir de souches qui n'avaient pas été préalablement étudiées sous le rapport de leurs fonctions antigéniques.

Standardisation des sérums expérimentaux

Ce fut la première question à résoudre, car c'est sur la diversité des souches et des sérums employés que reposaient les principales critiques élevées contre le séro-diagnostic classique. On a voulu en effet faire jouer un rôle de premier plan à la standardisation des souches et des sérums. Nous verrons ce qu'il faut penser de cette opinion.

Un sérum étalon ne donne de réponse valable qu'en

présence de la souche qui a servi à la préparer, et d'elle seule. Son titre perd en effet toute signification lorsqu'il est considéré par rapport à une souche différente.

Prenons par exemple deux sérums « O » purs préparés à partir de la souche O 901 (tableau I).

— Le premier : *sérum « O » Lister* provenant du Lister Institute agglutine cette souche au titre de 1/12.800.

— Le second : *sérum « O P R »* préparé par nous agglutine la même souche au titre de 1/6.400, et se trouve donc deux fois moins actif que le premier.

— Mis en présence d'une souche de collection (souche a T3) les deux sérums donnent des résultats absolument identiques l'agglutinant tous deux au titre de 1/1.600.

Il résulte de cette constatation que les conditions ayant changé, le titre standard devient sans valeur. Le taux d'agglutination d'une souche quelconque, mise en présence d'un sérum étalon est sans signification réelle, et ne peut servir de test unique pour le choix de souches destinées à la pratique du séro-diagnostic.

Aussi les sérums expérimentaux que nous avons éprouvés ne nous ont-ils servi qu'à préciser l'importance relative des différents facteurs antigéniques d'une souche donnée.

L'agglutinabilité d'une souche ne sera appréciée que par une série d'épreuves la mettant en contact avec la plus grande variété possible de sérums agglutinants.

Au cours de ces essais, nous nous sommes rendu

compte que les sérums contenant l'anticorps « H » étaient toujours beaucoup plus actifs que ceux contenant « O ». Quant à l'existence de l'anticorps « Vi » on ne peut en parler que lorsqu'on est en présence de sérums préalablement absorbés, car tous les sérums préparés à partir des souches dites « Vi » pures, contiennent des taux très élevés d'anticorps « H » qui rendent impossible l'appréciation objective d'un titre « Vi ». En cas de sérum absorbé, les titres « Vi » sont toujours faibles, oscillant entre 1/1.600 et 1/1.400.

Les sérums préparés avec des souches non sélectionnées mais rigoureusement identifiées, donnent toujours des titres « H » très importants, atteignant ou dépassant aisément le 1/25.000. Ces faits sont valables également pour les souches de paratyphiques « B ». Nous n'avons pu les étudier pour le paratyphique « A » ne disposant pas de sérum bactérien anti « O » pour ce dernier germe (voir tableau I).

Identification sérologique portant sur 14 souches

Nous avons par des réactions d'agglutination, essayé de préciser les caractères antigéniques de 21 souches, dont 14 avaient été isolées par hémoculture, au cours de ces deux dernières années (voir tableau II).

Ces 14 dernières souches ont préalablement été soumises aux épreuves d'identifications classiques auxquelles elles ont répondu normalement.

Toutes se sont avérées parfaitement mobiles et de

Tableau I - Etude comparative de différents sérums expérimentaux
en présence de souches sélectionnées.

Sérums	Souche H 901	Souche O 901	Souche Ty 2 (Vi+O+H)	Souche Watson	Souche HB 3 (Para BH)	Souche Aertrycke (Para BO)
H Lister	25.600	0	6.400	25.600		
H (PR)	25.600	6.400	6.400	6.400		
O Lister	12.800	12.800	6.400	0		
O (PR)	6.400	6.400	1.600	0		
Vi pur Lister	0	0	1.600	400	0	0
Ty 6S	12.800	0	3.200	800	0	0
Vi + O + H Lister	6.400	6.400	3.200	3.200		200
Ty2 (PR)	3.200	3.200	3.200	6.400		800
O + H	25.600	200	1.600	12.800 ?		
HB 3.PR (Para BH)					6.400	800
Aertrycke Lister (Para B.O.)					800	6.400
Aertrycke PR (Para B.O.)					1.600	3.200
O + H Lister Para B					12.800	1.600
O + H (P.R.) (Para B)					12.800	3.200

type « S » lors des premiers repiquages. Le vieillissement en milieu artificiel, après repiquages pratiqués tous les deux mois, a montré, presque constamment, leur passage à des formes R S. Aussi avons-nous eu soin de toujours répartir, pour nos épreuves d'agglutination, de colonies qui, morphologiquement, étaient parfaitement lisses. Tous les séro-diagnostics ont été pratiqués à partir de germes vivants en culture de 24 heures, sans aucune adjonction d'antiseptique.

— Le tableau II donne les différents résultats obtenus avec les 14 souches isolées par hémoculture.

— Les titres d'agglutination obtenus n'ont pas de valeur absolue. Ils montrent simplement l'aptitude des souches étudiées, à agglutiner en présence de différents anticorps, chacune le faisant dans les limites de sa propre agglutinabilité.

Il ressort de ce tableau que toutes les souches, sauf une: souche « a T 6 », présentent une agglutinabilité « H » le plus souvent double de leur agglutinabilité « O ».

— L'examen de la souche « a T 6 » ne nous a donné aucun renseignement susceptible d'expliquer cette particularité. Il s'agit d'une souche isolée par hémoculture au seizième jour d'une fièvre typhoïde bénigne, survenue chez une femme non vaccinée.

— Le séro-diagnostic pratiqué tardivement, au vingt-cinquième jour de la maladie, s'est montré franchement positif au 1/640 avec la souche « O » 901, à 1/640 avec la souche « H » 901.

Nous n'avons pu, pour cette malade, pratiquer de précipito-diagnostic.

TABLEAU II
Identification sérologique de 14 souches provenant d'Hémocultures

Souches	Sérum O	Sérum H	Sérum Vi+O+H	Sérum OH	Sérum Vi absorbé	Sérum Vi non absorbé
a T 1	6.400	16.800	18.600	25.600	0	-
a T 2	12.800	12.800	25.600	1.600	0	-
a T 4	1.600	12.800	12.800	25.600	0	-
a T 5	1.000	3.200	12.800	25.600	0	-
a T 6	12.800	6.400	12.800	6.400	0	-
a T 7	3.200	6.400	12.800	12.800	0	-
a T 8	4.000	8.000	-	-	0	- 160
Ty1 V.G.	1.000	8.000	2.000	32.000	0	+ 640
Ty2 V.G.	1.000	12.000	2.000	1.000	0	+ 640
Ty3 V.G.	200	8.000	8.000	200	0	-3200
Ty4 V.G.	8.000	16.000	16.000	16.000	0	640
Ty5 V.G.	2.000	32.000	32.000	64.000	0	0
Ty6 V.G.	4.000	16.000	16.000	-	0	640
Ty7 V.G.	4.000	32.000	64.000	4.000	0	320

— Aux épreuves d'identification sur les milieux habituels, cette souche s'est révélée comme étant une souche « S » mobile.

Ajoutons que, dans tous ces cas, l'agglutination « H » était à son maximum ou presque, au bout de deux heures d'étuve, l'agglutination « O » étant, au bout de ce temps, appréciable seulement dans les tubes contenant les dilutions les plus faibles.

Agglutination « Vi »

La question est plus complexe. En effet, toutes ces souches ont été mises en présence d'un sérum « Vi » pur, c'est-à-dire absorbé quant à ses agglutinations « O » et « H ». Aucune d'entre elles n'a donné de réactions appréciables alors que le sérum en question mis en présence de deux souches « Vi » de collection s'est montré parfaitement actif (voir tableau I).

Toutes ces souches ont été alors mises en présence d'un sérum préparé à partir de la souche « Ty » 6 S de Félix, et non absorbé. Le titre « Vi » de ce sérum, vérifié par précipitation d'un antigène glucido-lipidique « Vi » s'est montré très élevé, dépassant très largement le 1/200.000. Elles ont toutes donné dans ce cas des agglutinations positives à des titres assez élevés.

Dans l'interprétation de ces résultats, nous ne suivrons pas les conclusions de Félix quant à l'appréciation de la teneur de ces souches en antigène « Vi ». En effet la souche « Ty 6 S », si elle fait apparaître chez l'animal des agglutinines « Vi », fait apparaître

aussi, et à des taux très élevés, des anticorps « H », dont la présence rend, à notre sens, toute réaction d'agglutinations impossible à interpréter, en ce qui concerne son titre « Vi ». L'appréciation simultanée des deux titres « H » et « Vi » sur un même mélange agglutinant, nous paraît trop aléatoire pour être recommandable.

— En conclusion, les souches que nous avons étudiées ont présenté un titre d'agglutination « H » dominant, sauf dans un cas.

— Aucune d'entre elles n'a présenté d'« O » agglutination « Vi » pure, malgré la diversité d'origine de ces souches.

Aucune d'entre elle n'a présenté d'« O » agglutinabilité élevée, ce qui n'est pas pour nous surprendre, étant donné leur caractère constant de mobilité.

Etude de 56 séro-diagnostics de fièvres typhoïdes et paratyphoïdes

Nous avons, au cours de ces deux dernières années, pu étudier 56 sérums provenant de typhoïdes ou paratyphoïdes observées dans la région parisienne; nous avons soumis régulièrement ces sérums aux épreuves exposées au début de ce chapitre.

Dans tous les cas observés, sauf deux, la technique microscopique classique de Widal nous a donné des résultats positifs.

Ces résultats ont été confirmés :

— d'une part, par un examen macroscopique pra-

tiqué au bout de 20 à 22 heures à la température du laboratoire ;

— d'autre part, par le séro-diagnostic qualitatif qui nous a donné des résultats, en règle générale, équivalents mais montrant parfois aussi des titres plus élevés.

— Tous ces sérums, mis en présence d'une souche « Vi », n'ont, dans aucun cas, donné d'agglutination positive bien que l'on ait utilisé, pour certains d'entre eux, des dilutions de sérum commençant à 1/5.

— L'un de ces sérums provenait d'une typhoïde qui fut mortelle en 10 jours. Plusieurs provenaient de typhoïdes survenues chez des vaccinés; un autre était celui d'une typhoïde à manifestation absolument atypique.

Dans aucun de ces cas, l'agglutination « Vi » n'a pu être observée bien qu'ayant été recherchée à l'aide des deux souches Watson et « Ty » 6 S.

Tous nos sérums ont montré un titre « H » prédominant, en général double du titre « O ».

Les deux cas où le séro-diagnostic classique de Widal s'est montré négatif ont été l'objet d'une étude sérologique complète dont nous donnons ci-dessous le détail.

I. — Sérum « P. C. »

Ce sérum, dû à l'obligeance de M. Lemaire, a été prélevé au cours d'une typhoïde à rechute.

Le séro-diagnostic antérieurement pratiqué selon la technique de Widal et avec des souches de collection, s'était, à quatre reprises, montré négatif. L'hémoculture pratiquée au quinzième jour de la maladie avait été négative.

A) *Séro-diagnostic microscopique classique de Widal :*

1) Pour le Bacille d'Eberth :

- souche a T 3 = 0 souche T y 2 = 0
- souche H 901 = 1/100 souche Watson — 0
- souche O 901 = 0

2) Pour le Para B :

- souche a B 3 = 0 souche Aertrycke = 0
- souche H B 3 = 1/20

3) Pour le Para A :

- souche a A 1 = 0

B) *Séro-diagnostic qualitatif de Félix :*

I. — Germes vivants, en culture de 24 heures :

Pour le B. d'Eberth :

- souche H 901 = 1/200 souche T y 2 = 0
- souche O 901 = 0 souche Watson = 0

Pour le Para B :

- souche H B 3 = +1/20
- souche Aertrycke = 0

II. — Emulsions tuées, provenant du laboratoire des standards d'Oxford :

1) *Pour l'Eberth :*

- Emulsion H = 0 Emulsion O = 1/20

2) Pour le Para A :

- Emulsion H = 0 Emulsion O = 1/20

3) Pour le Para B :

- Emulsion H = 0

— Le sérum de cette même malade, examiné six mois plus tard, a donné, dans les mêmes conditions, une agglutination « H » positive à 1/20, toutes les autres épreuves étant négatives.

II. — Sérum « Te »

Dû à l'obligeance de M. May. Il nous a été également adressé et signalé comme donnant une réaction de Widal négative au cours d'une typhoïde confirmée par hémocultures.

Nous ne reprendrons pas le détail des différentes épreuves pratiquées; nous n'en donnerons que le résultat.

— Le séro-diagnostic microscopique de Widal s'est montré faiblement positif à 1/40 avec la souche a T 3.

— Le séro-diagnostic qualitatif s'est montré positif au 1/320 avec la souche H 901 et négatif avec toutes les autres.

De l'étude de ces deux observations il résulte que les défaillances du séro-diagnostic microscopique classique de Widal proviennent uniquement, dans ce cas, du manque de sensibilité des souches employées en présence des sérums étudiés.

Le séro-diagnostic dit « *qualitatif* » ne peut être en effet considéré comme tel, lorsqu'il met seulement en évidence une agglutination « H », qui comme on le sait, est sans signification particulière.

Dans ces deux cas, la souche « H 901 » de Félix s'est montrée extrêmement sensible et l'augmentation du temps d'incubation à l'étuve a manifestement facilité la réaction.

La présence d'une faible agglutination « O » avec le para B mérite de retenir l'attention. Sa constatation semble confirmer l'opinion suivant laquelle les coagglutinines du bacille d'Eberth et du para B seraient bien d'origine somatique. Nous avons eu, dans plusieurs autres cas, l'occasion de constater des faits analogues et nous retrouvons là le facteur XII de la classification antigénique de Kauffman.

Ces deux cas mis à part nous n'avons pas, dans l'ensemble, tiré grand bénéfice de la mise en œuvre de la technique de Félix et son utilisation ne nous a pas permis d'attacher un caractère particulier aux sérums et partant, à l'infection typhique en cause.

Précipito-diagnostic

Nous avons, dans cette série d'épreuves, utilisé 9 sérums de typhiques et 6 sérums provenant de paratyphoïdes B.

Nous donnons, ci-dessous, les résultats obtenus en signalant pour chaque cas le taux des agglutinations « O » et « H » obtenues.

- 1) Sérum Bi :
agglutination « H » = + a 1/1200 Précipitation « O » = + a 1/10.000
agglutination « O » = + a 1/600 Précipitation « Vi » = 0
- 2) Sérum P. C. :
agglutination « H » = + a 1/40 Précipitation « O » = 0
agglutination « O » = 0 Précipitation « Vi » = 0
sérum très hémolysé
- 3) Sérum Pe : agglutination « H » = 1/640 Précipitation « O » = 1/1000
— « O » = 1/320 Précipitation « Vi » = 0
- 4) Sérum Ch. : agglutination « H » = 1/160 Précipitation « O » = 1/1000
— « O » = 1/320 Précipitation « Vi » = 0
- 5) Sérum Ri : agglutination « H » = 1/160 Précipitation « O » = 1/10.000
— « O » = 1/160 Précipitation « Vi » = 0

6) Sérum Be :	agglutination « H » = 1/640	Précipitation « O » = 1/1000
—	« O » = 1/320	Précipitation « Vi » = 0
7) Sérum Tu :	agglutination « H » = 1/320	Précipitation « O » = 0
—	« O » = 1/320	Précipitation « Vi » = 0
Sérum infecté et trouble		
8) Sérum Vit :	agglutination « H » = 1/100	Précipitation « O » = 0
—	« O » = 0	Précipitation « Vi » = 0
Sérum infecté et trouble		
9) Sérum B :	agglutination « H » = 1/320	Précipitation « O » = 0
—	« O » = 1/320	Précipitation « Vi » = 0
Sérum très hémolysé		

Six sérums provenant de fièvre paratyphoïde B ont été soumis aux mêmes épreuves et ont donné des résultats constamment négatifs. Nous disposons depuis trop peu de temps d'antigènes glucido-lipidiques de Para B pour avoir une opinion sur leur valeur et nous n'avons pas encore pu étudier leurs précipitations par des sérums des malades.

Nous ne reviendrons pas sur la technique que nous avons employée et qui a été décrite en détail plus haut.

L'activité de nos solutions d'antigènes glucido-lipidiques a été préalablement vérifiée en présence de sérums expérimentaux. Tous nos sérums ont donné, dans ces mêmes conditions, des précipitations franches à des taux dépassant très largement le 1/200.000.

Dans tous les cas où une précipitation « O » a été obtenue avec l'antigène « O » du Bacille d'Eberth, une précipitation analogue a été constatée avec l'antigène « O » du bacille de Gartner.

Dans aucun cas nous n'avons obtenu de précipitation en utilisant l'antigène glucido-lipidique « Vi ».

L'antigène glucido-lipidique du Bacille de Shiga a toujours donné des résultats négatifs.

Ces résultats sont trop peu nombreux pour que nous puissions en tirer des conclusions formelles.

D'autre part la pratique de la précipitation exige un certain nombre de conditions qui ne nous sont apparues qu'au cours de nos essais.

— Il est indispensable d'employer une verrerie d'une propreté absolue.

— Les sérums étudiés devront être absolument limpides et autant que possible prélevés à jeun.

— Les sérums hémolysés même parfaitement transparents ne nous ont pas paru devoir être utilisés. Le séjour à l'étuve à 52° provoque souvent l'apparition d'un trouble qui gêne la lecture de la réaction, une incubation plus prolongée à 37° serait sans doute préférable dans ces cas.

Les sérums infectés seront préalablement centrifugés à grande vitesse et soigneusement décantés avant d'être utilisés.

Les solutions d'antigène doivent être absolument pures et il est souvent nécessaire de les centrifuger avant de les employer.

Toutes ces conditions nous ont paru absolument indispensables, et ne sont pas toujours faciles à réaliser lorsqu'il s'agit de sérum de malades ayant subi de nombreuses manipulations avant de parvenir au laboratoire.

Quelques impressions peuvent cependant se dégager de cette série de précipito-diagnostics :

Ce procédé nous paraît actuellement moins sensible que la recherche de l'agglutination. En ceci, notre opinion diffère de celle de Tulasne qui arrive à

des conclusions opposées en utilisant pour ses lectures le réfractomètre de Vernes. Nous avons déjà signalé les objections que l'on peut faire à cette technique.

Le manque de sensibilité des réactions de précipitation pratiquées avec des sérums de malades nous paraît d'autre part trouver une explication vraisemblable dans la pauvreté en anticorps « O » des sérums étudiés. Ils s'opposent par ce caractère à la richesse considérable des sérums expérimentaux.

Enfin, dans aucune de ces réactions nous n'avons pu déceler de trace d'anticorps « Vi », alors que les réactions parallèles pratiquées avec des sérums expérimentaux « Vi » purs ou « Vi+O+H » nous ont toujours donné des précipitations dépassant largement le 1/200.000.

En conclusion, la précipitation de solutions d'antigènes glucido-lipidiques par les sérums de malades nous semble intéressante à retenir, et peut rendre des services pour l'identification des anticorps contenus dans les sérums de malades.

Dans le domaine du laboratoire, elles permettent, seules actuellement, de déterminer avec précision les caractères antigéniques d'une souche. Le meilleur procédé d'identification nous paraît, en effet, être celui qui consiste à préciser les taux de précipitation d'antigènes glucido-lipidiques, en présence d'un sérum expérimental préparé à partir de la souche à l'étude.

DISCUSSION DE LA VALEUR PRATIQUE DES DISSOCIATIONS ANTIGENIQUES

Considérations sur la spécificité des différents antigènes des bacilles du groupe typho-paratyphique

La spécificité des différents antigènes « H » « O », « Vi » avait été primitivement considérée comme absolue. Cette conviction, qui reposait sur des faits purement expérimentaux, a été surtout soutenue par Félix et ses collaborateurs puis confirmée par Kauffmann.

Ces auteurs, se servant de sérums expérimentaux purifiés par absorption, ou par des procédés physiques ou chimiques, démontrèrent, à l'aide de réaction d'agglutinations croisées, que les différents antigènes des bacilles du groupe typho-paratyphique possèdent une spécificité stricte.

Un antigène « O » pur provoque chez l'animal l'apparition de l'anticorps « O » et de lui seul.

Un antigène « H » pur (suspension de cils) provoque l'apparition de l'anticorps « H » seul.

L'antigène « Vi » est également parfaitement spécifique.

Or l'étude plus poussée de ces antigènes, la découverte par Boivin et ses collaborateurs de sa nature glucido-lipidique, et la mise au point d'une technique d'extraction permettant d'isoler les antigènes somati-

ques à un état voisin de la pureté chimique, amènent à des constatations intéressantes en ce qui concerne la spécificité de l'antigène « O ».

En effet, l'antigène « O » de Bacille d'Eberth considéré comme le support de sa spécificité, et comme le constituant essentiel de son endotoxine est sérologiquement impossible à distinguer de l'antigène « O » du bacille de Gartner. Il est inutile d'insister sur l'étrangeté de ce fait qui est parfaitement établi.

Nous l'avons d'ailleurs nous-même, vérifié par des réactions de précipitation en utilisant comme réactif de l'antigène « O » du Bacille de Gartner et de l'antigène « O » du Bacille d'Eberth en présence soit d'un sérum expérimental, soit d'un sérum de typhique présentant un titre d'agglutination « O » élevé (1/1.600).

Au point de vue immunologique, l'anticorps « O » du B. typhique et l'anticorps « O » du Bacille de Gartner se comportent de la même manière dans les tests de la protection de la souris.

De même, l'antigène « O » du paratyphique « B » est sérologiquement impossible à différencier de l'antigène « O » du Bacille d'Aertrycke.

Nous ne pouvons mieux faire que de citer, à ce propos, les conclusions de Boivin, dans son rapport récent au Premier Congrès des Microbiologistes de Langue française : « La formule antigénique ne suffit pas toujours à distinguer entre elles toutes les « *Salmonella*, car des types antigéniquement identiques peuvent se séparer non seulement nettement « par leur pouvoir fermentaire mais encore par leur « pouvoir pathogénique comme cela a lieu par exem-

« ple pour les germes suivants : *S. paratyphi C.*,
« *S. Cholerae suis*, et *S. typhi suis*. »

Il en résulte que si la connaissance des différents facteurs antigéniques des bactéries du groupe typho-paratyphique présente un intérêt indiscutable, la valeur spécifique de ces antigènes peut se trouver, dans certains cas, sujette à caution, et ne permet pas seule une identification absolue. Ceci nous conduit à parler encore du rôle possible de l'antigène « H ». Bien qu'on lui dénie actuellement tout rôle dans la virulence, la majorité des auteurs est d'accord pour lui reconnaître une place importante comme facteur spécifique.

C'est précisément lui que met en évidence le classique séro-diagnostic de Widal.

Valeur de l'antigène « Vi »

Nous rappellerons d'abord que son existence est basée sur deux critères : l'un négatif : son inagglutinabilité par « O », l'autre hypothétique, puisque les auteurs ne sont pas d'accord sur sa signification : son rôle dans la virulence de la souche qui le présente.

L'existence de l'antigène « Vi » ne saurait cependant être mise en doute; elle est démontrée : par les réactions de saturation des agglutinines; par l'existence indubitable de souches « Vi » dites pures dénuées de tout antigène « O »; par la possibilité d'extraire un antigène glucido-lipidique « Vi » voisin mais différent de l'antigène glucido-lipidique « O ».

Sa spécificité est également indiscutable puisque dans le groupe des typho-paratyphiques il n'existe que dans le Bacille d'Eberth.

Plus délicate est la question de fréquence car, alors que certains auteurs le retrouvent constamment, d'autres le considèrent comme rare. Personnellement nous ne l'avons mis en évidence dans aucun des sérums de malades que nous avons étudiés, bien que nous ayons mis ces sérums en présence de la souche Watson due à l'obligeance de A. Félix et considérée par lui-même comme une souche « Vi » type.

Si bien que nous croyons actuellement prudent, dans l'appréciation des caractères d'une souche d'Eberth donnée, de ne tenir qu'un compte relatif de la présence, ou de l'absence, de l'antigène « Vi ».

Dissociation antigénique et valeur immunisante

Avant d'aborder ce chapitre, il importe de préciser la signification exacte de l'immunité antityphique.

Disons immédiatement que l'accord n'est pas réalisé sur cette question et que l'immunité antityphique met en jeu un mécanisme humoral complexe où interviennent la personnalité humorale même du sujet ainsi que des phénomènes allergiques qui, pour certains auteurs, seraient prédominants. Surtout, il faut bien considérer que, comme Widal l'avait déjà observé, l'immunité n'a, le plus souvent, aucun rapport avec le taux des anticorps qui peuvent exister ou qu'on peut faire apparaître chez un sujet donné.

Enfin, ainsi que le font remarquer Tessier, Reilly,

Rivalier, Cambassédès, Delalande, il faut toujours distinguer :

a) L'immunité expérimentale, déterminée chez la souris ou le lapin ;

b) L'immunité des sujets guéris d'une fièvre typhoïde ;

c) L'immunité des sujets préservés par inoculation de vaccins.

Ce sont, pour employer les propres termes de ces auteurs, « trois exemples d'états dits réfractaires habituellement confondus, et qui, pour s'accompagner de certaines réactions humorales ou cellulaires communes, comportent pourtant des attributs distincts. »

L'efficacité de la vaccination anti-typho-paratyphique n'en est pas à ses premières critiques. La dernière venue fut celle de Félix qui, attribuant à l'antigène « Vi » un rôle prédominant dans la virulence, déniait toute efficacité à une vaccination incapable de faire apparaître chez le vacciné l'anticorps « Vi ».

Nous rappellerons que cet auteur considère l'antigène « Vi » comme étant le facteur d'exaltation du pouvoir de multiplication des bactéries dans l'organisme infecté. Ce point de vue n'est pas en accord avec celui de Kauffman qui fait de « Vi » un facteur toxique, et de Boivin et de ses collaborateurs qui le considèrent simplement comme un constituant non obligatoire de l'endotoxine du Bacille d'Eberth.

Disons enfin que cette assertion allait contre les faits. L'efficacité de la vaccination typho-paratyphique ne peut actuellement, après la très large expérience que l'on en a, faire sérieusement de doute pour

personne. Chacun sait d'autre part qu'elle peut parfois se trouver en défaut, mais que dans ce cas la bénignité de la typhoïde est de règle presque constante. Enfin, dans un travail récent, Félix et Bathnagar reconnaissent eux-mêmes que l'adjonction de souche « Vi » au vaccin T. A. B. ne fait pas apparaître dans le sang des vaccinés d'anticorps « Vi ».

A la suite des travaux de Boivin et de ses collaborateurs on a été amené à attribuer au contraire à l'anticorps « O » le rôle principal, dans la création de la résistance vaccinale à l'infection. Cette conception est essentiellement basée sur le fait de la propriété que présente l'anticorps « O » de protéger la souris contre des doses plusieurs fois mortelles de bacilles vivants ou d'antigène « O ».

L'antigène « O » paraît, dans ces conditions, environ cinq fois plus toxique que l'antigène « Vi », le pouvoir protecteur de l'anticorps correspondant paraissant également plus considérable.

Pour intéressantes que soient ces conceptions, elles ne tiennent compte dans l'établissement de l'immunité que de la réaction antigène-anticorps, laissant de côté le facteur non négligeable de l'allergie spécifique. Nous ne devons en effet pas oublier que les épreuves de protections de la souris ou du lapin, *qui sont des animaux non réceptifs* à la typhoïde, ne mettent en jeu que le facteur toxique et ne peuvent rendre compte du mécanisme tout différent de l'infection naturelle.

Si bien qu'il nous paraît à l'heure actuelle prématuré d'envisager une vaccination uniquement prati-

quée à l'aide d'antigènes purifiés. Cette vaccination aurait à nos yeux l'inconvénient d'abandonner délibérément l'antigène « H » non encore défini. On peut et on doit actuellement dénier à cet antigène « H » toute responsabilité dans la toxicité et le pouvoir pathogène d'un germe, mais sa haute spécificité intervient certainement dans la création d'un état d'immunité, dans lequel le facteur sensibilisation spécifique peut être jusqu'à preuve du contraire, considéré comme très important.

Une conclusion pratique peut toutefois être envisagée dès maintenant : c'est la possibilité de préparer, à partir d'antigènes glucido-lipidiques, des sérums thérapeutiques antitoxiques dont l'intérêt est évident. Des essais ont déjà été tentés dans ce sens, depuis plusieurs années, par Félix, qui à partir d'une souche « Vi » prépare au Lister Institute un sérum anti-« Vi » qui aurait entre ses mains donné des résultats thérapeutiques très appréciables. Or, il semble que les sérums expérimentaux préparés à l'aide d'antigènes glucido-lipidiques présentent constamment des taux d'agglutination et de précipitation beaucoup plus élevés que les sérums préparés à partir de corps bactériens.

Un antigène glucido-lipidique enfin peut être considéré comme un réactif absolument pur, condition que ne remplissent pas les corps bactériens même provenant de souches spécialement sélectionnées.

Dissociation antigénique et séro-diagnostic de la fièvre typhoïde

Nous avons vu que la connaissance de ces nouveaux facteurs antigéniques avait conduit naturellement à utiliser, pour le diagnostic sérologique de la fièvre typhoïde, leur plus grande spécificité, ou leur plus grande sensibilité. Actuellement, on oppose à la réaction classique de Widal des réactions plus sélectives mettant en évidence, séparément, les différents anticorps. C'est le séro-diagnostic « qualitatif » proposé par A. Félix et dont nous avons exposé en détail la technique.

Un certain nombre d'arguments paraissent plaider en sa faveur. Avant tout ce sont les défaillances du séro-diagnostic de Widal.

Il existe manifestement un certain nombre de cas où le séro-diagnostic de Widal reste négatif malgré la répétition des épreuves au cours ou après des typhoïdes dont le diagnostic était affirmé par une ou plusieurs hémocultures positives.

Il ne s'agit pas là d'un fait nouveau, et Widal lui-même en avait signalé la possibilité, bien que la considérant comme exceptionnelle. Il est actuellement bien connu que les séro-diagnostics peuvent être longtemps négatifs au cours des typhoïdes à rechute. Un autre fait peut être observé exceptionnellement : c'est l'inagglutinabilité de certaines souches récemment isolées de l'organisme, cette inagglutinabilité se produisant surtout en présence du sérum du malade en cause. Aucune explication valable n'a jamais été don-

née de ces faits et l'étude des agglutinations séparées n'a pas à notre connaissance fourni de clartés nouvelles sur ce point.

Quant aux séro-diagnostics négatifs, dans les conditions des fièvres typhoïdes habituellement observées, ils nous paraissent extrêmement rares puisque, dans notre pratique qui porte sur une soixantaine de sérums, nous n'avons relevé aucun cas où la technique de Widal se soit trouvée complètement en défaut.

M. le Professeur Lemierre a apporté une statistique portant sur des centaines de cas de fièvre typhoïde où le séro-diagnostic s'était trouvé une seule fois en défaut. Widal, dans un mémoire publié, en 1887, dans les « Annales de l'Institut Pasteur », donne une statistique de 167 cas dans laquelle le séro-diagnostic ne s'est trouvé en défaut qu'une seule fois.

Nous sommes donc très loin de certaines statistiques, comme celle de Robertson et Yu donnant une proportion d'erreurs de 20 % et des conclusions de Delbove et Brisou qui publient 14 séro-diagnostics pour fièvre typhoïde dont 12 négatifs, par la technique de Widal, furent trouvés positifs par la recherche des agglutinations séparées « O », « H ».

Nous avons cherché une explication satisfaisante à ces divergences, et n'en avons pas trouvé d'autre que celle de modifications spéciales des souches pathogènes pouvant dépendre de leur distribution géographique.

Quant aux infections dues à des bactéries immo-

biles (souches « O » pures) elles nous paraissent extrêmement rares, car nous n'en avons relevé aucune d'absolument probante dans la littérature médicale française (1).

**Le séro-diagnostic qualitatif
donne-t-il des résultats plus précoces
que le séro-diagnostic classique de Widal ?**

Ici encore les opinions divergent et il faut bien admettre que chaque typhoïde représente un cas particulier, et que, par suite, toute tentative d'uniformisation des résultats serait illusoire.

On tend à admettre cependant que l'apparition des anticorps « O » serait la première en date, et que l'agglutination « O » permettrait parfois un diagnostic sérologique plus précoce de la fièvre typhoïde.

Si on se reporte à la littérature, on constate que le séro-diagnostic de Widal, qui ne met en évidence que l'agglutination « H », peut être extrêmement précoce. Classiquement, le séro-diagnostic est positif dans la règle à partir du septième jour de la maladie (Widal). Cependant il peut l'être beaucoup plus tôt. Widal l'a lui-même constaté au cinquième jour dans six cas. Thiroloix et Catrin, au quatrième jour, Johnston et Taggart, M. C. Fränkel — cités par Widal — l'auraient constaté « chez des malades atteints de forte

(1) Il existe quelques rares observations de Bacille d'Eberth immobiles isolés par hémoculture. Mais dans toutes, la mobilité du germe est apparue après un ou deux passages sur les milieux artificiels. On ne peut donc pas parler dans ces cas de variantes « O » stables.

fièvre depuis deux jours seulement ». Notre expérience nous donne des résultats assez variables, mais nous permettant d'affirmer que le séro-diagnostic de Widal peut être positif assez fréquemment dès le premier septenaire, et qu'il y a toujours avantage, lorsqu'on pratique une hémoculture, à faire un séro-diagnostic sur un échantillon du même prélèvement de sang.

La recherche de l'agglutination, avec les divers facteurs « O » et « H » ne nous a jamais donné de résultats nettement supérieurs à ceux du séro-diagnostic classique. Toutes les épreuves pratiquées concurremment se sont montrées également positives ou négatives.

Antigène « Vi » et séro-diagnostic de Widal

La présence d'anticorps « Vi » a été le principal argument contre le séro-diagnostic classique.

Faisons d'abord remarquer que la technique utilisée pour la mise en évidence de l'antigène « Vi » ne diffère pratiquement pas de celle du séro-diagnostic classique, mises à part les précautions spéciales concernant l'entretien des souches.

Dans ces conditions, la présence ou l'absence d'antigène « Vi » ne nous a pas paru devoir modifier en quoi que ce soit la marche de la réaction.

En effet, les agglutinations « H » et « Vi » ne se gênent pas mutuellement, et peuvent même, d'après Félix, « se produire simultanément au sein de la même émulsion, tout en réstant dissociables pour l'observateur ».

Les souches « Vi » sont « O » inagglutinables, et parallèlement la présence d'anticorps « Vi » entrave l'agglutination « O ». Le séro-diagnostic de Widal ne met en évidence que l'agglutination « H », et ne peut être en aucune façon gêné par la présence du facteur « Vi ».

La possibilité d'infection par des souches « O » pures redonne à l'agglutination « Vi » une importance considérable. Nous n'avons jamais eu l'occasion d'observer de telles infections. Sans nier leur existence, nous pensons qu'elles sont trop rares pour justifier l'abandon d'une méthode simple aussi pratique que le séro-diagnostic de Widal au profit de la technique infiniment plus longue et plus complexe du séro-diagnostic qualitatif.

Séro-diagnostic « Vi » au cours de la typhoïde des vaccinés

Récemment Félix et son élève Bhatnagar ont été amenés à reprendre la question du séro-diagnostic de la typhoïde chez les vaccinés.

Dans un travail effectué aux Indes, Bhatnagar signale que les souches qu'il a pu isoler, au cours de ces dernières années, étaient toutes porteuses de l'antigène « Vi ».

Cet auteur aurait constaté, d'autre part, une proportion telle de défaillance dans les réponses du séro-diagnostic de Widal, et même dans la recherche séparée des agglutinations « H » et « O », qu'il en serait venu à y renoncer complètement pour l'Armée des Indes.

Enfin, il a constaté que l'introduction, dans les émulsions vaccinales de souches « Vi », s'est avérée incapable de faire apparaître dans le sang des vaccinés l'anticorps « Vi ». Se basant sur cet ensemble de constatations, il propose, après une étude statistique portant sur 134 cas, dont 56 chez des vaccinés et 78 chez des non vaccinés, de recourir uniquement à l'agglutination « Vi » dans le diagnostic de la fièvre typhoïde.

Il ressort des résultats obtenus par Bhatnagar qu'au cours de la fièvre typhoïde, on observe constamment une agglutination « Vi » positive dont les modalités diffèrent selon que l'on se trouve ou non en présence de sujets antérieurement vaccinés.

Chez les vaccinés, l'agglutination « Vi » apparaîtrait régulièrement aux environs du huitième jour et son titre s'élèverait en flèche aux environs des dixième et douzième jours, pour retomber rapidement et tendre vers zéro au moment de la guérison. Les titres les plus élevés observés se trouvent compris entre le 1/50 et le 1/100.

Chez les non vaccinés, l'agglutination « Vi » apparaîtrait plus tardivement. Son taux s'élèverait beaucoup plus lentement, atteignant au maximum 1/50 et oscillant en règle autour de 1/25. Sa disparition serait aussi plus progressive et coïnciderait avec la guérison.

Enfin, dans l'un et l'autre cas, on pourrait tirer des conclusions pronostiques du taux de l'agglutination qui serait d'autant plus faible qu'il s'agirait de formes plus graves.

Dans toutes ses épreuves, il s'est servi d'une souche isolée par lui-même qu'il appelle « Vi I » et qui se comporterait sérologiquement comme une souche « Vi » pure entièrement dépourvue d'antigène « O » et d'antigène « H ».

Il existe une contradiction évidente entre cette apparition d'anticorps « Vi » dans les formes bénignes de typhoïde et la conception de Félix sur la signification de l'antigène « Vi » qui serait le facteur de la virulence.

D'autre part, le diagnostic de fièvre typhoïde basé sur une agglutination, même « Vi », dont le taux ne dépasse pas le 1/50 est sujette à caution.

La règle classique proposée par Widal, Lemierre et Abrami que nous exposons ci-dessous, nous a toujours donné la plus entière satisfaction.

Chez les vaccinés par le T. A. B., lorsque la vaccination date de plus de deux mois, l'agglutination du bacille typhique est valable au-dessus de 1/300; celle du bacille paratyphique « A » au-dessus de 1/100; celle du bacille paratyphique « B » au-dessus de 1/200. Ces auteurs ajoutent que lorsque la vaccination date de moins de deux mois le séro-diagnostic est impossible.

Nous n'avons pas d'opinion sur la valeur pronostique possible de l'agglutination « Vi » car nous n'avons pu la mettre en évidence dans les typhoïdes de la région parisienne ni pour les formes graves ni pour les formes légères où nous l'avons recherchée.

Agglutination « Vi » chez les porteurs de germes

Félix et Bhatnagar ont proposé la recherche de l'agglutination « Vi » dans le dépistage des porteurs de germes. Chez ceux-ci, en effet, l'agglutination « Vi » serait constamment positive, quoique à des taux très bas, de l'ordre du 1/20 et au-dessous, tant que l'on peut isoler le bacille des matières fécales ou des urines. La disparition de l'agglutination « Vi » coïnciderait avec la stérilisation des porteurs de germes (?).

Nous avons vu les principaux arguments invoqués contre la pratique du séro-diagnostic de Widal. La principale critique qu'on lui a faite est celle de son infidélité et de son peu de sensibilité.

A ces critiques fait suite une proposition lourde de conséquences pratiques : La standardisation des procédés et des résultats du séro-diagnostic des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes.

D'une part l'intérêt pratique d'une telle standardisation, basée sur une technique assez complexe, et sur l'utilisation obligatoire de souches et de sérums délivrés par une organisation internationale ne nous paraît pas évident. D'autre part, la généralisation de telles techniques aurait pour résultat immédiat de priver le clinicien d'un procédé de diagnostic aisément réalisable dans n'importe quel laboratoire, et dont la simplicité d'exécution et d'interprétation fait une méthode accessible à tous.

Il paraît au contraire vraisemblable que leur ré-

partition géographique influe considérablement, aussi bien sur les caractères des bactéries infectantes que sur les aspects cliniques des maladies. Ceci pourrait expliquer les divergences notées dans les conclusions de chercheurs travaillant dans différentes parties du monde.

Aussi nous semblerait-il logique d'utiliser d'après les caractères locaux d'endémicité, les souches autochtones et les sérums correspondants.

CONCLUSIONS

I. — Le séro-diagnostic classique de Widal demeure la méthode de diagnostic sérologique la plus recommandable, pour les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes. Une seule fois sur 56 elle nous a donné un résultat nettement inférieur au diagnostic qualitatif qui consiste dans la recherche séparée des agglutinines.

II. — Contrairement au séro-diagnostic classique, qui d'une grande simplicité d'exécution peut être employé facilement dans les laboratoires cliniques, le séro-diagnostic qualitatif, d'une réalisation difficile, ne peut sortir du cadre de laboratoires spécialisés. Sa complexité technique en fait une méthode difficile à généraliser. Les renseignements supplémentaires qu'il apporte ne sont pas suffisants, au point de vue pratique, pour justifier l'emploi d'une technique aussi complexe.

III. — Nous n'avons jamais observé de souches « O » pures parmi les échantillons que nous avons étudiés. Aussi la recherche de l'agglutination « O » ne nous paraît qu'exceptionnellement indiquée.

IV. — Nos souches ont constamment présenté des titres d'agglutination « H » élevés. La technique classique de Widal est toujours suffisante dans ce cas.

V. — L'agglutination « Vi » n'est intéressante qu'au cas d'études sérologiques spéciales portant, par exemple, sur des souches destinées par exemple à la préparation d'émulsions vaccinales ou de sérums thérapeutiques. Au point de vue diagnostic, elle ne nous paraît pas avoir actuellement de caractère suffisamment précis pour pouvoir être généralisée.

VI. — L'extraction des antigènes glucido-lipidiques représente un très gros progrès dans l'étude des caractères antigéniques de *Salmonella*. Plus précise que les réactions d'agglutinations, elle est actuellement la seule technique présentant une rigueur suffisante.

VII. — Les précipitations de solution d'antigènes glucido-lipidiques par des sérums de malades ne sont encore qu'au stade expérimental, et une généralisation hâtive risquerait d'en fausser la signification. Peut-être pourront-elles introduire, dans la pratique des examens sérologiques, la notion de quantité à laquelle peut difficilement prétendre l'utilisation de souches et de sérum standard.

VIII. — Le pouvoir anti-endotoxique des sérums préparés à partir de l'antigène « O » et de l'antigène « Vi » peut présenter un intérêt pratique. Les déceptions causées par la sérothérapie classique de la

fièvre typhoïde justifient de nouvelles tentatives basées sur des connaissances sérologiques plus précises.

IX. — Le rôle des anticorps somatiques dans la création d'un état réfractaire est incontestable expérimentalement, que l'on utilise des antigènes glucido-lipidiques ou des émulsions microbiennes. Cependant leur application à la vaccination humaine ne nous paraît pas tenir suffisamment compte du mécanisme de l'immunité naturelle, par le fait que les antigènes somatiques ne représentent pas tout le support de la spécificité des germes en cause.

Vu :

LE DOYEN :
TIFFENEAU.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE :
VILLARET

Vu et permis d'imprimer :

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS,
ROUSSY.

BIBLIOGRAPHIE

- ABRAMI (P.). — Etude sur les coagglutinations typho-paratyphiques (*Journ. Physiol. et Path. Gén.*, 1907, p. 129).
- AASSER (F.). — Ueber di makroskopische Agglutinationsprobe bei Typhoïdfieber (*Berlin. Klin. Woch.*, 1903, p. 556).
- ACHARD (Ch.) et FOIX. — Diagnostic opsonique (*C. R. Soc. Biol.*, 1909, t. 67, p. 771).
- Sur l'agglutination des divers échantillons du bacille d'Eberth et des bacilles paratyphiques (*Ibid*, 1896, t. 48, p. 940).
- ACHARD (M.). — Sur le séro-diagnostic de la fièvre typhoïde. (*Bull. Soc. méd. hôp.*, 1896, t. 13, p. 649).
- ALEXA (F.), MANOLIU, BALTEANU (E.). — Valeur comparée de l'antigène total (culture vivante, et des antigènes « O » et « H » dans la réaction de Vidal. Evolution de la courbe des agglutinines au cours de la fièvre typhoïde (*C.R. Soc. Biol.*, t. 126, p. 529).
- ALMOND (L.) et STOVALL (W.-D.). — A Study of the « Vi antigen » of Félix and Pitt (*Journal of Imm.*, 1936, t. 31, p. 269).
- A stury of the « Vi antigenic » fraction of typhoïd Bacilli isolated from carriers and cases.

- The antibody content of the serum of these patients. (*Amer. Journ. Pub. Health*, 1937, t. 27, p. 357).
- ANDREWES (F.-W.). — Studies in group agglutination. I. The salmonella group. and its antigenic structure (*Journ. of Path. and Bact.*, 1922, t. 25, p. 605). Studies in group agglutination. II. The absorption of agglutinins in the diphasic *Salmonella* (*Ibid.*, 1925, t. 28, p. 345).
- ARCHER (R.) et ALDANA (B.). — Les défaillances du séro-diagnostic, causes probables (*Journ. des Sciences Méd. de Lille*, 1937, n° 49, p. 536).
- ARIMA (E.). — Ueber die Typhustoxine und ihre pathogene Wirkung(*Centralbl. f. Bak. Origin.*, 1912, t. 63, p. 4, p. 424).
- Ueber die Antikörperbildung gegen Typhusbacillen (*Ibidem*, 1912, t. 65, p. 183).
- ARKWRIGHT (J.-A.). — *Journal of Path. and Bact.*, 1921, t. 24, p. 26.
- BACHMANN (A.). — Antigène vi et action préventive du sérum anti-Eberth (*C. R. Soc. Biol.*, 1937, t. 124, p. 380).
- BADENSKJ (A.). — Recherche comparée des agglutinines « O » et « H » dans les cas de fièvre typhoïde (*C. R. Soc. Biol.*, 1937, t. 127, p. 527).
- BAERTHELEIN. — Ueber Mutation serscheinungen bei Bakterien (*Arb. a Kais. Gesundh.*, 1912, t. 40).
- BECKERICH (A.) et ENGEL (G.). — Quelques données techniques sur chacune des variables de l'agglutination typhique (*C. R. Soc. Biol.*, 1921, t. 84, p. 672).
- BERICHTE. — Uber die 17 Tagung der Deutschen Vereinigung fur Mikrobiologie (*Centralbl. f. Bakt. Orig.*, 1937, p. 140).

- BESREDKA (A.). — Endotoxines microbiennes (*Bull. Inst. Pasteur*, 1914, t. 12, p. 145).
- BHATNAGAR (S.-S.). — « Vi » agglutination in the diagnosis of typhoid fever and the typhoid carrier (*Brit. Med. Journ.*, 1938, p. 195).
- Phagocytis of B. Typhosus in relation to its antigenic structure and to the antibody component of the sensitizing serums (*Brit. J. Exp. Patho.*, 1935, t. 16, p. 375).
- BIER (O.-G.). — Influence de la concentration en NaCl sur l'optimum d'agglutination (*C. R. de Biol.*, 1931, t. 108, p. 511).
- BLASI (D.-E.) et BÉRARDINIS (L. de). — Ricerche sulle agglutinine del tifo (*An. Ig. Sper.*, 1903, t. 13, p. 592).
- BOHAIN (F.). — Guérison rapide de fièvre typhoïde par le sérum d'un sujet convalescent (*Rev. Gén. Clin. et de Thé.*, 1921, t. 35, p. 760).
- BOIRON (H.) et SCHAFER (E.). — Influence de l'agitation sur l'agglutination du bacille typhique (*C. R. Soc. Biol.*, 1932, t. 109, p. 459).
- BOIVIN (A.) et MESROBÉANU (L.). — Sur la présence d'antigène complet et d'antigène résiduel dans certaines bactéries (*C. R. Ac. Sciences*, 1935, t. 201, p. 168).
- Recherches sur les antigènes somatiques et sur les endotoxines des bactéries. I : considérations générales et exposé des techniques utilisées. II : L'antigène somatique complet (antigène « O ») de certaines bactéries est le constituant principal de leur endotoxine (*Rev. Immunol.*, 1935, t. 1, p. 553 — t. 2, p. 113).
- Recherches sur les antigènes somatiques et sur les endotoxines des bactéries. III : antigène

somatique « O » complet et variations bactériennes (*Ibid.*, 1937, t. 3, p. 319).

- Recherches sur les antigènes somatiques et sur les endotoxines des bactéries. IV : Sur l'action anti-endotoxique de l'anticorps « O » (*Ibid.*, 1938, t. 4, p. 40).
- Recherche sur les antigènes somatiques et les endotoxines des bactéries. V : Sur le pouvoir vaccinant de l'antigène « O » et sur l'action anti-infectieuse de l'anticorps « O » (*Ibid.*, 1938, t. 4, p. 197).
- Recherche sur les antigènes somatiques et les endotoxines des bactéries. VI : Sur la nature chimique et sur les propriétés biologiques des antigènes « O » et « Vi » du bacille typhique (*Ibid.*, 1938, p. 469).
- Les endotoxines bactériennes récentes acquisitions dans nos connaissances sur leur nature chimique et sur leurs propriétés biologiques (*Presse Méd.*, 1936, p. 1995).
- Recherche sur la nature chimique et sur les propriétés biologiques des antigènes somatiques et des toxines des bactéries (*C. R. du 6^e Congrès de Chimie Biologique*, Lyon, 11-13 octobre, 1937, p. 401).
- Recherches sur les antigènes somatiques du bacille typhique sur l'action immunisante anti-endotoxique des deux complexes glucido-lipidiques, qui représentent les antigènes « O » et « Vi » du bacille d'Eberth (*C. R. Soc. Biol.*, 1938, t. 128, p. 835).
- Recherches sur les antigènes somatiques du bacille typhique sur l'action immunisante anti-endotoxique des deux complexes glucido-lipidi-

- ques, qui représentent les antigènes « O » et « Vi » du bacille typhique (*Ibid.*, p. 5).
- Remarques concernant l'extraction du complexe polysaccharidique antigénique renfermé dans le bacille d'Aertrycke (*Ibid.*, 1934, t. 115, p. 304),
 - Extraction d'un complexe polysaccharidique antigénique à partir de diverses bactéries autres que le bacille d'Aertrycke (*Ibid.*, p. 306).
 - Complexes polysaccharidiques toxiques et antigéniques des bacilles typhiques et paratyphiques (*Ibid.*, p. 304-309).
 - Sur le pouvoir protecteur antiendotoxique des sérums obtenus en injectant à l'animal des endotoxines glucido-lipidiques (*Ibid.*, 1937, t. 124, p. 1.092).
 - Sur les rapports existants entre la constitution chimique de l'antigène somatique des bactéries et la colorabilité de ces bactéries par la méthode de Gram (*Ibid.*, p. 1.176).
 - Sur l'action anti-endotoxique de l'anticorps « O » formé dans l'organisme en réponse à l'injection d'un antigène glucido-lipidique (antigène « O ») (*Ibid.*, 1938, t. 127, p. 752).
 - Sur l'action anti-infectieuse de l'anticorps « O » formé dans l'organisme en réponse à l'injection d'un antigène glucido-lipidique (antigène « O ») (*Ibid.*, p. 755).
 - Recherches sur les antigènes somatiques du bacille typhique. Sur quelques propriétés biologiques comparées des antigènes « O » et « Vi » (*Ibid.*, 1938, t. 129, p. 9).
 - Sur la spécificité qui se manifeste dans l'action immunisante anti-infectieuse des antigènes glucido-lipidiques (antigène « O ») (*Ibid.*, p. 358).

- Sur la résistance à l'acide trichloracétique de l'antigène flagellaire (antigène « H ») du bacille typhique et sur la nature chimique probable de cet antigène (*Ibid.*, p. 136).
- Les antigènes somatiques et flagellaires des bactéries (*Annales Inst. Pasteur*, 1938, t. 61, p. 426).
- BOIVIN (A), MESROBEANU (L) et IZARD (Y). — Sur la séparation par voie chimique des endotoxines glucido-lipidiques et des exotoxines protéiques (*Ibid.*, 1938, t. 127, p. 651).
- BORDET (J). — Les leucocytes et les propriétés actives du sérum chez les vaccinés (*Ann. Inst. Pasteur*, 1895, p. 492).
- Immunité antigène, anticorps. (Traité de physiologie de Roger Binet) (1926, t. 1, p. 421).
- BORDET et SLEESWYK. — Séro-diagnostic et variabilité des microbes selon les milieux de culture (*Annal. Inst. Pasteur*, 1910, t. 24, p. 476).
- BRNER. — Zur Widal-schen serodiagnostik (*Berliner Klin. Woch.*, 1896, n°s 47 et 48).
- BUCKLEY (C.-D.-M.). — Agglutinogenic properties of washing of culture of *Bacillus Typhosus* (*J. Roy. Army M. Corps*, 1927, t. 49, p. 100).
- BULL (G.-G.) et PRITCHETT (I-W.). — The agglutinability of the blood and agar strains of typhoid bacilli (*Journ. of exp. Med.*, 1916, t. 24, p. 7).
- BURNET (F.-M.). — Observation on the agglutinins in typhoid Fever (*Brit. J. Exp. Path.*, 1924-1925, t. 251, p. 260).
- CATRIN. — Sur le séro-diagnostic et séro-pronostic de la fièvre typhoïde (*Soc. Méd. Hôpit.*, 1896, t. 13, p. 698).
- CALABRO (S.-E.). — Ulteriori ricerche sul cosiddetto antigene « Vi » di Felix (*Giorn. Datt. t. Imm.*, 1937, t. 19, p. 649).

- CHANTEMESSE et WIDAL. — De l'immunité contre la fièvre typhoïde conférée par les substances solubles (*Ann. Inst. Pasteur*, 1887).
- CHANTEMESSE. — Séro-thérapie de la fièvre typhoïde (*Presse Méd.*, 1904, p. 681).
- CIUCA (M.), MESROBEANU (L.), BADENSKI (A.), MONTEANU (G.). — Sur la structure antigénique des souches du *Protéus* X et sur le rôle de leur antigène glucido-lipidique dans la réaction de Weil-Félix. (*C. R. Soc. Biol.*, 1938, t. 127, p. 1.414).
- CLAISSE (R.) et ROUX (M.). — Lictère grave primitif à bacille d'Eberth d'origine ostréaire (*Rev. Médic. Chir. des Mal. du Foie*, 1938, t. 13, n° 6).
- COFFRIN (M.). — Remarques sur la vaccination anti-typhoïdique préventive (*Presse Méd.*, 1938, p. 583).
- COLE (R.-J.). — Experimenteller Beitrag zur Typhus immunität (*Zeitschr fur Hyg.*, 1904, t. 46, p. 371).
- Ueber die Agglutination Werschiedener Typhus-stamme (*Zeitschr f. Hyg.*, 1904, t. 46, p. 367).
- COMBIESCO (D.). — Reasearches on the antigenics modifications of *Bacillus Typhosus* (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, New-York, 1923, t. 21, p. 490).
- COMBIESCO (D.-C.), DUMITRESCO (N.), BADENSKI (A.). — L'antigène « Vi » des Bacilles typhiques (*C. R. Soc. Biol.*, 1937, t. 126, p. 1.079).
- COMBIESCO (D.-C.), SORU (E.). — Quelques propriétés physico-chimiques biologiques et sérologiques des antigènes glucido-lipidiques des bacilles typhiques (*C. R. Soc. Biol.*, 1937, t. 126, p. 1.081).
- COMBIESCO (D.), COMBIESCO (C.), SORU (E.). — Sur les propriétés immunologiques des complexes glucido-lipidiques extraits des bacilles typhiques (*C. R. Soc. Biol.*, 1938, t. 129, p. 413).

- CONRADI (H.) et BIELING (R.). — Ueber Fehlerquellen der G. Rueber Widolschen Reaktion (*Deutsche Mediz Woch.* Oct., 1916, p. 1.280).
- Congrès de Nancy (*Presse Méd.*, 1896, p. 389).
- COSTA-CRUZ (J.-DA). — Agglutination flagellaire et agglutination somatique (*C. R. Soc. Biol.*, t. 123, p. 713).
- COSTA (S.), BOYER (L.), JAUR (L.). — Sur le précipito-diagnostic de la fièvre typhoïde (*C. R. Soc. Biol.*, 1924, t. 90, p. 865).
- COURMONT (P.). — Répartition de la substance agglutinante chez les typhiques (*C. R. Soc. Biol.*, Mars, 1897).
- Disparition in vitro du pouvoir agglutinant des humeurs des typhiques lorsqu'on y cultive le bacille d'Eberth (*Ibid.*).
- COURMONT (J.) et ROCHER (A.). — Technique de la détermination du bacille d'Eberth par la recherche de l'agglutination (*C. R. Soc. Biol.*, 1910, t. 69, p. 134).
- CRAIGIE (J.). — Studies of on the serological reactions of the flagella of *B. Typhosus* (*Journ. of Imm.*, 1931, t. 21, p. 417).
- CRAIGIE (J.) et BRANDON (K.-F.). — The identification of « V » and « W » forms of *B. Typhosus*, and the occurrence of the « V » forms in cases of typhoid fever and in carriers (*Journ. Path. a. Bact.*, 1936, t. 43, p. 249).
- DELALANDE. — L'allergie typhique (Thèse de Paris, Librairie Arnette, 1930).
- DELAFIELD (M.-E.). — Blood-agar changes and toxic effects produced in rabbits by certain fractions derived from « Bac Aertrycke » (*Brit. Jour. Exp. Pathology*, 1934, t. 15, p. 130).

- DELANOE (G.). — De l'anaphylaxie ou hypersensibilité typhique (*C. R. Soc. de Biol.*, 1909, t. 66, p. 207).
- De quelques particularités de l'anaphylaxie ou hypersensibilité typhique (*Ibid.*, p. 252).
- De différentes propriétés des sérums de cobayes anaphylactisés et antianaphylactisés vis-à-vis du bacille typhique (*Ibid.*, p. 348).
- Du mécanisme de l'anaphylaxie typhique (*Ibid.*, p. 389).
- DELBOVE (P.) et BRISOU (J.). — Etude sérologique de 45 souches de bacille d'Eberth, isolées en Cochinchine (*C. R. Soc. Biol.*, 1938, t. 128, p. 275).
- Séro-réaction de Widal et séro-diagnostic qualitatif de Félix dans quelques cas de typhoïde observée à Saïgon (*Bull. Soc. Biol.*, 1938, t. 129, p. 167).
- DIACONO (H.). — Séro-diagnostic des affections typhiques, rôle des globulines sériques dans l'épreuve de l'agglutination (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, t. 88, p. 869).
- DOMBROWSKY. — Ueber die Widal shen Reaktion und deren praktische Bedeutung (*Haj. Rundschau*, 1903, t. 12, p. 209).
- DENNIS (E.-W.) et BERBERIAN (D.-A.). — A study of the production of somatic and flagellar agglutinins in reponse to anti-typhoid inoculation (*Amer. Journ. Hyg.*, 1934, t. 20, p. 409).
- DUJARRIC DE LA RIVIÈRE (R.) et KOSOVITCH (N.). — Antigènes. Hétéro-antigènes et Haptènes (1 vol. Baillièrre et Fils, Edit., 1937, Paris).
- DULANEY (A.) and WIKLE. — « H » and « O » agglutination in typhoid fever (*Journ. of Imm.*, 1933, t. 24, p. 235).
- DULANEY (A.), WALTER, WIKLE, STEWART, RAYFIELD, WALKER Junior, PREACHER. — « H » and « O »

agglutination following typhoid vaccination, and in an unselected group of individuals (*Journ. of Imm.*, 1933, t. 24, p. 229).

ECKER et RIMINGTON. — Preliminary study of chemical nature of toxic substances produced by salmonella group of organisms (*J. Hyg.*, 1927, t. 27, p. 44).

EUGLING (M.) et GRASSBERGER. — Zur Kenntnis der inagglutinablen Typhusstämme (*Wien. Keiml. Woch.*, 1908, t. 21, p. 510).

FÉLIX (A.). — Ueber Varianten der Proteus X Stamme (*Zeitschr. f. Immun.*, 1924, t. 35, p. 57).

— The qualitative Receptor analysis and its application to typhoid fever (*J. of Immun.*, 1924, t. 9, p. 115).

— Nuovi Risultats nella sierologia del typho abdominale (*Bul. Soc. Med. di Bologna*, 1924, p. 113).

— Ueber die Bedeutung der Rezerptorenanalyse für die serodiagnostik der Typhosen Erkrankungen (*Ztsch f. Imm.forsch. de Exper. therap. Jena. orig.*, 1924, t. 39, p. 127).

— The qualitative serum diagnostic of enteric fever. Direction for its performance (*The Lancet*, t. 218, p. 505).

— Detection of chronic typhoid carriers by agglutination test (*The Lancet*, 1938, p. 738).

— The Titration of Therapeutic anti typhoid serums (*J. of Hyg.*, 1938, t. 38, p. 750).

FÉLIX BHATNAGAR. — Further observations on the properties of the « Vi » antigen of B. Typhosus and its corresponding antibody (*Brit. J. Exp. Path.*, 1935, t. 16, p. 442).

FÉLIX (A.), BHATNAGAR (S.-S.), PITT (M.). — Observations on properties of « Vi » antigen of B. Typhosus (*Ibid.*, 1934, t. 15, p. 346).

- FÉLIX (A.) et GARDNER (A.-D.). — *Bull. organisation d'hygiène Société des Nations* (avril 1937).
- FÉLIX (A.) et MITZENMARCHER (F.). — Weitere Untersuchungen über den Nachweis der O und H Receptoren bei den Proteus stammen (*Wien. Klin. Woch.*, 1918, t. 31, p. 988).
- FÉLIX (A.) et PÉTRIE (G.-F.). — The preparations of antityphoidic serum in horse for therapeutic use in man (*J. Hyg.*, 1938, t. 38, n° 6).
- FÉLIX (A.) et PITT (M.). — A new antigen of B. Typhosus. Its relation to virulence and active and passive immunisation (*The Lancet*, 1934, t. 227, p. 186).
- The « Vi » antigen of various salmonella types (*Brit. J. of Exper. Path. and Bact.*, 1936, t. 17, p. 81).
- Virulence of B. Typhosus and resistance to « O » antibody (*J. of Path. and Bact.*, 1934, t. 38, p. 409).
- FENTON (J.) et HAY (C.-P.). — Prophylactic use of antityphoid serum in a localized out break (*Brit. Med. J.*, 1938, p. 1.090).
- FICKER (M.). — Ueber ein Typhus diagnosticum (*Berlin. Klin. Woch.*, 1903, t. 45, p. 1.021).
- FIESSINGER et CATTAN. — Le pouvoir bactéricide du sérum et du plasma à l'égard du bacille d'Eberth (*R. Méd.*, Sept., 1928).
- FROMENT (J.) et ROCHAIX. — Sur un bacille d'Eberth authentique non agglutinable (*C. R. Soc. Biol.*, 1913, t. 74, p. 797).
- FURTH et LANDSTEINER. — On precipitable substances derived from Bacillus typhosus and bacillus paratyphosus B. (*J. Exp. Med.*, 1928, t. 47, p. 171).
- GAEHTGENS (W.). — Erfahrungen Über den Wert. der Gruber-Widalschen Reaktion für Typhus diagnose (*Arb. a. d. Kais. Gesundh.*, 1907, t. 26).

- GARDNER (A.-D.), HOBSON (F.-G.) and STENHOUS (G.).
— A case of typhoid fever with persistent negative Widal reaction but positive « O » agglutination (*The Lancet*, 1930, t. 218, p. 182).
- GARDNER (A.-D.) et WALTHER (E.-W.-A.). — An inquiry into the nature of the serological difference exhibited by different cultures of a Bacterial species (*B. Typhosus*) (*J. Hyg. Cam.*, 1921, t. 20, p. 110).
- GASSER (M.). — Deux cents cas de séro-diagnostics (*Soc. Méd. Hôp.*, 1897, t. 14, p. 870).
- PACHECO (G.) et PARA (M.). — Sur quelques propriétés antigéniques de *Salmonella typhosa* liées à la présence de l'antigène « Vi » « component » (*C. R. Soc. Biol.*, 1938, t. 127, n° 8).
- Sur la production de l'agglutine par *Salmonella typhosa* et la détermination du titre « Vi » (*C. R. Soc. Biol.*, 1938, t. 127, n° 8).
- GIBSON (H.-N.-J.). — Natural agglutinins and their relationship to the somatic and flagellar antigens in bacteria (*J. of Imm.*, 1932, t. 22, p. 211).
- GILBERT, MARION, COLEMAN. — Agglutination in the Diagnostic of enteric disease (*Amer. J. Publ. Health.*, 1933, t. 23, p. 693).
- GILOT (L.). — Contributions à l'étude de l'infection typhique expérimentale (*Thèse de Paris*, 1919).
- GIOVANARDI (A.). — Particolari fenomeni di dissociazione osservati in stipiti di *B. Typhi* dotate dell'antigene Vi. (*Bull. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1937, n° 11, p. 796).
- GLADSTONE (G.-P.). — The antigenic composition and virulence of the *B. typhosum* grown on a chemically definite medium (*Brit. J. Exp. Path.*, 1937, t. 18, p. 67).

- GRASSET (E.) et LEWIN (W.). — Antigène « Vi » du Baccille typhique dans l'infection et l'immunité antitoxine (*R. C. Soc. Biol.*, 1937, t. 124, p. 331).
- GRINNEL (F.-B.). — Studies on the relationship of certain variants of B. Typhosus Agglutination and typhique : rôle dans la préparation de l'endoana-agglutinin absorption (*J. Exper. Med.*, 1931, t. 54, p. 577).
- Study of the dissociation of the Raidlins strain of B. Typhosum with special reference to its use in the production of antityphoid vaccine (*J. of Expt. Med.*, 1932, t. 56, p. 907).
- GORI (D.). — L'infezione sperimentale della cavia con stipiti di B. Typhi dotate e sprovisisti di antigene Vi (*Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1937, n° 3, p. 374).
- HASHIMOTO (K.). — Agglutinatorische Analyse der Widalischen Reaktion (*Centralbl. f. Bakt.*, 1929, t. 110, p. 92).
- HADLEY (Ph.). — Microbic Dissociation. (*J. of Infect. Diseases*, 1927, t. 40, p. 1).
- HAUDUROY. — Quelques données nouvelles sur la sérologie de la fièvre typhoïde (*Presse Méd.*, Octobre, 1937, p. 1525).
- HAVENS (H.-L.-C.). — Antigenic analysis of strains (*J. Infect. Disease*, 1928, t. 43, p. 335).
- HAYEM. — Sur la persistance de la propriété agglutinante du sérum des typhiques après chauffage à 57°, 59° (*Soc. Méd. Hôp.*, Janvier, 1897).
- HENDERSON (D.-W.), and MORGAN (X.-T.-J.). — The isolation of antigenic substances from strains of Bact. Typhosum (*Brit. J. of Exp. Path.*, 1938, t. 19, p. 82).
- HEIDELBERGER (M.). — Les aspects chimiques de la fonction antigène et leur rapport avec les agents infectieux (*Rev. Imm.*, 1938, t. 4, p. 293).

- Immuno chemistry (*An. Rev. of Biochemist. Stanford University Press*, 1932, t. 1, p. 655, 1933, t. 2, p. 554, 1935, t. 4, p. 569).
- HOOKE (S.). — A comparison of the antigenic properties of different strains of bacillus typhosus (*J. of Imm.*, 1916, t. 2, p. 1).
- HORNUS. — Structure antigénique et classification des bacilles du groupe des Salmonella (*Rev. d'Imm.*, 1935, t. 1, p. 488).
- Imens Submitted for the typhoid agglutination test (*J. Lab. et Clin. M.*, 1924, p. 282) (St-Louis).
- JAHNCKE (A.). — Mouse typhoid, pathological findings ulcerous enteritis, liver necrosis and splenic enlargement (*Berl. tierärztl. Woch.*, 1926, t. 42, p. 858).
- JELIN (W.). — Zur Frage über den Mechanismus der abdominal typhosen infektion und erworbenen Immunität (II Mitteilung). Über die erworbene Immunität Gegen Abdominal Typhus beim Kanarienvogel (*Zeits. Immunit.*, 1926, t. 47).
- KAMETA (T.). — Ueber den Einfluss der Hitze auf paratyphus bakterien Rezeptoren (*Ibid.*, 1932, t. 64, p. 363).
- KAUFFMAN. — *Bull. organisation Hyg. soc. des Nations*, juin 1935.
- KAUFFMANN (F.). — Ueber grob und feinflockige Typhusagglutination (*Ztschr. f. Imm. v. infektion skrankh.*, 1926, t. 106, p. 241).
- Ueber einen neuen serologischen formenwechsel der Typhus bacillen (*Ztschr. f. hyg.*, 1935, t. 116, p. 617).
- Zur Frage des Vi antigen der Paratyphus B und Mäuse typhus bacillen (*ibid.*, 1936, t. 118, p. 318).

- Ueber die diphasische natur der typhus bacillen (*ibid.*, 1936, t. 119, p. 65).
- Ueber einen neuen salmonella typhus (salmonella bredeney) sowie die Bewertung der Antigentabelle (*ibid.*, p. 356).
- Untersuchungen über die Körperantigene in der samonella Grupe (*ibid.*, 1936, t. 117, p. 188).
- KIGUCHI (S.). — Experimental studies on the O inagglutination and Vi antigen of B Typhosus (*Jap. J. Exp. Med.*, 1938, t. 6, p. 491-507).
- KILDUFFE (R. A.). — Clinical interpretation of Widal reaction (*J. M. Soc. New-Jersey*, 1925, t. 25, p. 334).
- KIRSCHBRUCH (A.). — Die untersuchung des Blutes gegen typhus bacillen geimpften personen auf Agglutinine bei Typhus verdacht (*Deut. Med. Woch.*, 1915, t. 18, p. 525).
- KLEINSORGEN (W.). — Ueber negative Gruber-Widalschen Reaktion bei schwerein typhus (*Zeitschr. f. Hyg.*, 1921, t. 92, p. 158).
- LUHNEMANN (G.). — Ueber Veranderungen der Geisseln bei der Agglutination (*Centrabl. f. Bakt. Origin.*, 1910, t. 54, p. 355).
- LAHM (W.). — Untersuchungen über den agglutinationetiter nach typhusschutzimpfung bei gesunden und Kranken (*Centrabb. f. Bak.*, 1921, t. 86, p. 21).
- LAIGNEL-LAVASTINE, LÉVY-BHRUL, GALLOT et MIGNOT. — Fièvre typhoïde anormale Encéphalotyphus, séro-réactions négatives (*Soc. Méd. Hôp.*, avril 1938, p. 613).
- LANDSTEINER (K.) et FURTH (J.). — Extraction des substances précipitables des bactéries par l'alcool dilué (*Proc. Soc. Exp. Biol. et Méd.*, 1927, t. 24, p. 379).

- LANGER (H.). — Ueber shweragglutinable typhusstämme (*Zeitsch. f. Hyg.*, 1917, t. 38, p. 438).
- LAVERGNE (V. DE), CRÉANGE (J.) et LÉVY. — Durée entre l'apparition des premiers signes de typhoïde et la réaction de Widal (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, t. 99, p. 837).
- LEGROUX (R.) et MAGROU (J.). — Etat organisé des colonies bactériennes (*Ann. Inst. Pasteur*, 1920, t. 34, p. 417).
- LEMATTE et STASSANO. — Nouvelle méthode du diagnostic des affections typhiques et paratyphiques avec des émulsions de bacilles tués par les rayons ultra-violet (Soc. Méd. de Paris, 7 avril, 1911).
- LEMIERRE (A.). — Le séro-diagnostic de Widal (*Gazette des Hôp.*, 1938, n° 13, p. 201).
- LESIEUR (Ch.). — Rapports entre la mobilité et l'agglutinabilité du bacille d'Eberth (*J. Phys. et Path. Gén.*, 1903, t. 5, p. 539).
- LESOURD. — Recherches expérimentales et cliniques sur la présence d'une substance sensibilisatrice dans le sérum des typhiques (*Thèse de Paris*, 1902).
- LÉVY (P.-P.) et PASTEUR VALLERY-RADOT. — Absence ou diminution momentanée de l'agglutination de certains bacilles typhiques et paratyphiques après leur isolement de l'organisme (*Ann. de Méd.*, 1916, t. 3, n° 5).
- Remarques sur la technique de l'agglutination des bacilles typhiques et paratyphiques (*ibid.*).
- LIEBERMANN (L. V.) et ACEM (D.). — Ueber das Wesen der Typhus immunität (*Deutsche Mediz. Woch.*, juillet 1917, p. 867).
- LIESS (W.). — Ist. die Gruber Widalschen Reaktion bei Schutzgeimpften unverwerthar (*Münch. Mediz. Woch.*, 1918, p. 1045).

- LINGELSHEIM (V.). — Zur Frage der Variation der Typhus bacillen und verwandter gruppen (*Centrab. f. Bakt. I original*, 1913, t. 68, p. 577).
- LITTLE (C. J. H.). — Widal reaction in military laboratories. Suggestions (*J. Roy. Army M. Corps*, 1927, t. 49, p. 321).
- MACFAYDEN (A.) et ROWLANDS. — Intra-cellular toxins of the typhoid bacillus (*Proc. Royal Society*, 1902, t. 71, p. 77).
- Upon the intracellular constituent of the typhus bacillus (*Centrabbl. f. Bak. Origin.*, 1903, t. 34, p. 765).
- MACFAYDEN (A.). — Upon the immunising effect of the intracellular contents of the typhoid bacillus, as obtained by the desintegration of the organism at the temperature of liquid air (*Proc. Royal Soc.*, avril, 1903, p. 556).
- MAESHIMA (R.). — Einfluss der Hitze auf den Paratyphus A Rezeptor, besonders auf atypische paratyphus A von Aoki und Shimoye (*Zeitschr. f. Imm.*, 1931, t. 71, p. 421).
- MALEK (Y.). — Sur la présence de l'antigène Vi dans les différentes souches d'Eberthella typh. (*C. R. Soc. Biol.*, 1938, t. 129, p. 785).
- Propriétés antigéniques de la souche « R. O. » et ses relations avec les souches « O » et « H » d'Eberthella typh. (*ibid.*, p. 802).
- MALTABER (F.). — A study of « smooth » and « Rough » forms, of the typhoid Bacillus in relation to prophylactic vaccination and immunity in typhoid fever (*J. of Imm.*, 1934, t. 24, p. 161).
- MAZEPOROV (N.) et JEGOROV (A.). — Importance des formes S. R. et O. des bacilles du groupe typhique pour la préparation des sérums diagnosti-

- ques et des antigènes microbiens (*Trav. Inst. Hyg. publ. Etat Tchécoslovaque*, 1932, juillet p. 79).
- MÉRY (H.) et GIRARD (L.). — Saturation des agglutinines dans la vaccination par le vaccin chauffé T.A.B. (*C. R. Soc. Biol.*, 1917, t. 80, p. 636).
- MEISEL (H.) et MIKULASZEK (E.). — Recherches sur les antigènes des souches typhiques H et O (*C. R. Soc. Biol.*, 1930, t. 105, p. 414).
- . Restantigene und dissoziation in der typhus-paratyphus gruppe (*Zeitschr. f. Immunitat.*, 1932, t. 73, p. 448).
- MESROBEANU (L.). — Les antigènes glucido-lipidiques des bactéries (étude chimique et biologique) (*Arch. Roumaines Path. Exp. Microb.*, 1936, t. 9, p. 1) et *Thèse de sciences, Strasbourg*, 1936).
- METCHNIKOFF (E.). — Fièvre typhoïde expérimentale (*C. R. Ac. Sc.*, 1910, t. 150, p. 755).
- MORZYCKI (J.) et ZABLOCKI (B.). — Endotoxine obtenue par congélation répétée, propriétés physiques, chimiques et antigéniques (*C. R. Soc. Biol.*, 1934, t. 117, p. 789-792).
- MUELLER (P. T. H.). — Ueber die Immunisierung de Typhus Bazillus gegen specifische agglutinine (*Münch. Med. Woch.*, 1903, t. 2, p. 56).
- MULLER (R.). — Mutationen bei Typhus und Ruhrbakterien (*Centrabbl. f. Bakter. I. Orig.*, 1911, t. 58, p. 97).
- NELIS (P.). — Production des agglutinines chez le lapin soumis à l'injection intra-veineuse de bacille parathyphique B (*C. R. Soc. Biol.*, 1937, n° 31).
- NETTER (A.) et RIBADEAU-DUMAS. — Apparition des agglutinations spécifiques et des agglutinations de famille au cours des affections typhoïdes et paratyphoïdes (*C. R. Soc. Biol.*, 1905, t. 59, p. 502).

- Infections paratyphoïdiques observées à Paris et dans des localités très diverses (*ibid.*, p. 373, 374, 433, 448, 450, 500).
- NICOLLE (M.). — Les antigènes et les anticorps (un vol., Masson, 1924).
- NICOLLE (Ch.). — L'agglutination spontanée des cultures, ses rapports avec l'agglutination par les sérums (*C. R. Soc. Biol.*, 1898, t. 50, p. 1054).
- NICOLLE (Ch.) et CATHOIRE. — Les agglutinines secondaires du sang des malades atteints d'affection paratyphique. Spécificité de la séroréaction dans ces infections (*C. R. Soc. Biol.*, 1906, t. 60, p. 330).
- NICOLLE (M.), JOUAN (C.) et DEBAIN. — Recherches sur l'action bactéricide de divers sérums antimicrobiens (*Ann. Inst. Pasteur*, mai 1919, t. 22).
- NICOLLE (M.), RAPHAEL (A.) et DEBAIN (E.). — Etude sur le bacille d'Eberth et sur les bacilles paratyphiques (*Ann. Inst. Pasteur*, 1917, t. 81, p. 374).
- NICOLE et HALIPP. — Séro-diagnostic de la fièvre typhoïde (*Presse Méd.*, 1896, p. 354).
- NOBECOURT (P.) et PEYRE (E.). — Agglutination des bacilles typhiques et paratyphiques isolés chez des malades du service des contagieux de F... par des sérums agglutinants expérimentaux (*Soc. Méd. Hôp. de Paris*, mars 1917, p. 493).
- ÖLLER (H.). — Zur Immunobiologie des typhus Klimische und experimentelle unter such ungen (*Zeitschr. f. Klin. Med.*, Berlin, 1922, t. 94, p. 49).
- OHTAKI (J.). — Agglutinationische analyse von typhus immunsera Zugleich ueber die mitagglutinationische Beziehung Swischen den spezifischen und unspezifischen varianten der typhusbazillen (*Zeitschr. f. Immunitätsf.*, 1931, t. 70, p. 210).
- OLITZKI (L.). — Die Beziehnungen Zwischen den Auftreten stabilotropen agglutinins in Blute von Ty-

- phuskauken und dein Klinischen Verlaufe des typhus (*Centrabbl. f. Bakt. I.*, 1928, t. 106, p. 247).
- ORCOLES (U.). — Studio sul potere antigeno del bacillo del tifo. (Messinna, 1921.)
- ONETTO (E.), LEYTON (G.), LUNA (N.). — Notas sobre antigeno y anticuerpo Vi (*Rev. del Inst. Bact. Chile*, 1937, t. 16, p. 55).
- ORSKOV (J.) und KAUFFMAN (F.). — Untersuchungen über die Typhus immunität der Mauss (*Zeitschr. f. Hyg. und Infek.*, 1936, t. 118, p. 65).
- PACHECO (G.) et PARA (M.). — Propriétés antigéniques de salmonella typhosa liées à la présence du « Vi » component. Production d'agglutinines par S. typhosa et détermintaion du titre « Vi » (*C. R. Soc. Biol.*, 1938, t. 128, p. 725-727).
- PAMART (R.). — Courbes de séro-réaction dans la typhoïde (*C. R. Soc. Biol.*, 1899, t. 51, p. 121).
- PASTEUR VALLERY-RADOT, CLAISSE (R.) et ROUX (M.). — (*Soc. Méd. Hôpit.*, 1938, 13 mai.)
- PETRIGNANI. — Caract. morphologiques et sérologiques des souches R. et S. (*Cong. Nat. de micro-biologie de Milan*, 1932).
- PETTERSON (Alfred). — Neber die cirulens die immunisierende Wirkugg des Typhus Bacillus (*Centrabbl. f. Bakt. Orig.*, 1905, t. 38, p. 73).
- PISU (I.). — Culture de formes dépourvues de cils des bacilles typhiques et paratyphiques au moyen de chlorure de Lithium ajouté à la culture (*Boll. Sez. Ital. Soc. internaz. Microb.*, 1934, t. 6, p. 59).
- PFEIFFER et KOLLE. — Zur differential diagnose der typhusbae vermittelst serum dergegen typhus immunisirten thiere (*Deuts. Med. Woch.*, 19 mars 1896, p. 185).
- RACHMIELIS. — Contribution à l'étude du séro-diagnostic typho-paratyphique. La réactivation du pouvoir

- agglutinant par les infections intercurrentes (*Thèse de Strasbourg*, 1937).
- RAISTRICK (H.) et TOPLEY (W. W. C.). — Immunizing fractions isolated from « Bact.-Aertrycke » (*Brit. Journ. Exper. Pathology*, 1934, t. 15, p. 113).
- RAINSINE (S.). — Contribution à l'étude de la dissociation des cultures du bacille d'Eberth. (*C. R. Soc. Biol.*, 1930, t. 104, p. 107).
- ROBERTSON (R. C.) et YU (H.). — The value of « H » and « O » agglutination in the serological diagnostic of typhoid Fever (*The Chinese Medical Journal*, 1935, t. 49, p. 1117).
- Studies on bacillus typhosus in Shanghai (*Journ. Path. and Bact.*, 1936, t. 42, p. 53).
- The vi-antigen of Bact. typhosus (*Journ. of Path. and Bacter.*, 1936, t. 42, p. 191).
- RODET (A.). — Sérothérapie de la fièvre typhoïde (*La Clinique*, Paris, 1923, t. 18, p. 148-151).
- RODET (A.) et LAGRIFFOUL et ALY-WAHLI. — Toxines du bacille d'Eberth (*C. R. S. B.*, 1904, t. 56, p. 799-998).
- RODET (A.) et DELANOÉ (P.). — Sur la septicémie typhique expérimentale (*Arch. Méd. exp.*, 1906, t. 18, p. 581).
- RODET (A.) et GUÉCHOFF. — Application de la méthode des sacs de collodion à la connaissance des produits toxiques des bacilles d'Eberth et Coli (*C. R. Soc. Biol.*, 1900, t. 52, p. 952).
- RODET (A.) et LAGRIFFOUL. — Le sérum antityphique dans ses rapports avec le mode d'infection expérimentale (*C. R. S. B.*, 1906, t. 61, p. 189).
- Virulence du bacille d'Eberth (*C. R. S. B.*, 1905, t. 49, p. 555).
- Sérums antityphiques ; leurs propriétés multiples à l'égard de l'infection (*C. R. S. B.*, 1905, t. 59, p. 267, 270, 274 ; *ibid.*, 1906, t. 61, p. 189).

- ROGER, WIDAL, TEISSIER. — *Traité de Médecine* (Maladies infectieuses). (Masson, édit.)
- ROUSLACROIX (A.) et BOIRON (H.). — Antigènes thermostables et thermostables des germes du groupe T. A. B. (*C. R. S. B.*, 1931, t. 108, p. 99, 973-975).
- RUIZ CASTANEDA. — Production de capsules dans les formes « S » et « R » des bacilles du groupe typho-paratyphique et dysentérique (*Rev. Mex. de Biologie*, 1929, t. 9, p. 108-112).
- SADLER (Karl). — Neber den Einfluss des Temperaturotropismus von 55° auf die Agglutination beim Fickerschen und Widal'schen Versuche (*Berlin, Klin. Woch.*, mars 1905, p. 255).
- SALMONELLA SUBCOMMITTEE. — (*Journ. Hyg.*, t. 34, 1934, p. 333.)
- SARTORY (A.). — De la reconnaissance de différents bacilles typhiques et paratyphiques (*Progrès Médical*, 1920, t. 35, p. 95).
- SHERIDAN DELEPINE. — On the sero-diagnostic (*The Lancet*, 5 december et 12 december 1896).
- SCHOLTENS (R. Th.). — Der Glatt-Rauhformenwechsel des « *Bakterium typhi* » (*Centralbl. f. Bakt.*, 1937, t. 139, p. 467).
- SEMRAU (H.). — Zur serodiagnostik typhoser Erkrankungen (*Zeitschr. f. Immun.*, 1934, t. 83, p. 359).
- SMITH (J.). — The serological diagnosis of typhoid and paratyphoid fever (*Journ. of Hyg.*, 1932, t. 32, p. 143).
- SERGEANT (E.). — Statistique comparative des cas de fièvre typhoïde observée dans les deux sexes avant et après la guerre (*Bull. Acad. Méd.*, 1921, t. 35, p. 182-184).
- SOTTA (E.). — Rossigno sopra l'antigène Vi del B. typhi (*Giorn. Batt. et immunol.*, 1937, t. 2).

- SORU (E.) et COMBIESCO (C.). — Etude des propriétés chimiques des antigènes du bacille typhique (*C. R. S. B.*, 1938, t. 129, p. 1006).
- STASSANO (H.) et LEMATTE. — De la possibilité de conserver intactes des agglutinines dans les bactéries qu'on tue par les rayons ultra-violets. Avantage de ce moyen de stérilisation pour préparer les émulsions bactériennes destinées au séro-diagnostic (*C. R. Acad. Sciences*, 1911, t. 152, p. 623).
- STEPHENS (J. W. W.). — Non flagellate Typhoid Bacillus. Thompson Yates a. Johnston Lab. (*Rep.*, 1905, t. 6, p. 125).
- STUART (A. C.). — The effect of the environmental changes on the Growth, morphology, physiology and immunological characteristics of the Bacterium Typhosum (*H. Bacteriol. Bul.*, 1924, t. 9, p. 581-602).
- TEISSIER (P.), REILLY (S.), RIVALIER (E.), CAMBESSÉDÈS et DELALANDE (J.). — Nouvelles recherches sur l'immunité typhique (*Ann. de Méd.*, avril 1930, t. 27, N° 4 et *Ann. de Méd.*, décembre 1930, t. 28, N° 5).
- THIBAUT et BRAUMBERGER (J.). — Variantes « R » et « S » du bacille dysentérique Shiga (*C. R. S. B. Biol.*, 1930, t. 120, p. 434).
- THOINOT (G.) et CAVASSE (A.). — Fièvre typhoïde, légère suivie d'une double rechute. Séro-diagnostic négatif dans la première attaque, positif dans les deux suivantes et dans la convalescence définitive (*Soc. Méd. Hôp.*, 1896, t. 13, p. 863).
- TOPLEY (W. W. C.), RAITRICK (H.), WILSON (J.), STACEY (M.), CHALLINOR (S. W.) et CLARKE (R. O. J.). — The immunising potency of antigenic components isolated from different strains of Bact. Typhosum (*Lancet*, 1937, t. 232, p. 252).

- TOPLEY (W. W. C.), WILSON (J.) and DUNCAN (J. T.). — The mode of formation of aggregates in bacterial agglutination (*Brit. Journ. Exp. Path.*, 1935, t. 16, p. 116).
- TOPLEY (W. W. C.) and WILSON (G. S.). — The principles of bacteriology and immunity (un vol., New-York, 1936, Win Wood and C°).
- TRAWINSKI et KIESLER. — Gegenseitige Hitzebeständigkeitsbeziehungen der « H » und « O » antigene Zu den « H » und « O » Rezerptoren der bakterien der Ungerer Paratyphus B gruppe (*Centralbl. f. Bakt. I.*, 1932, t. 124, p. 300).
- TRIBONDEAU (L.). — Séro-diagnostic par les cultures mortes de bacilles typhiques (*C. R. S. B.*, 1908, t. 66, p. 93).
- TROUSSAINT. — La réaction de Widal dans le pronostic de la fièvre typhoïde (*C. R. S. B.*, 1903, t. 55, p. 198).
- TULASNE (R.). — Etude des précipitines de l'infection éberthienne à l'aide de l'antigène complet de Boivin, lecture photométrique (*C. R. S. B.*, 1938, t. 128, p. 580, 652 et 1041).
- VENEMA (T. A.). — Ueber agglutination hypagglutinabler Typhusbazillen (*Münch. Mediz. Woch.*, 1917, N° 15, p. 485).
- Ueber das Temperaturoptimum bei der Mikrokopischen Grüber Widal'schen Reaktion (*Hyg. Rundsch.*, 1909, N° 2).
- VERZAR (Fritz). — Ueber spontan origin, agglutinierende Typhus bazillen (*Centralbl. f. Bakter I.*, 1917, t. 80, p. 161).
- VINCENT (H.). — Les bases expérimentales de la vaccination antityphique (*C. R. Acad. Sciences*, 1910, t. 150, p. 355).

- Inoculation typhoïdique expérimentale par la méthode des inoculations protégées (*C. R. Acad. Sciences*, 17 janvier 1938).
- VINZENZO (Albano). — Sub efficacia del siero anti-Vi per la cura dell infezione Tiffica (*La Riforma Medica*, N° 30, année 54).
- WASSILIADIS (P. Ch.) et CHAWARBY. — Au sujet des agglutinations typhiques d'émulsions traitées par le chloroforme (*Bull. Soc. Biol.*, 1938, N° 25, p. 170).
- WEILL (Edmond). — Ueber die Agglutinations bhinderung des Typhusbazillen (*Arch. f. Hyg.*, 1905, t. 53, p. 291).
- WEIL et FELIX. — Zur Frague der spezifitat der X. Stamme un der Weil Felixschen agglutination bei Fleckfeiber (typhus) (*Wien Klin. Woch.*, 1918, t. 30, p. 1158-1159).
- Ueber den Doppel. typhus der Rezeptoren der Typhus-paratyphus-Gruppe (*Zeitschr. f. Imm.*, 1920, t. 29, p. 24).
- Ueber die Bedigungen der Agglutibildung das Fleckfieber. Virus (*Wien Klin. Woch.*, 1920, t. 83, p. 655-657).
- WELCH (H.) et MICKLE (F. L.). — « Vi » antigen in carrier strains of Eberthella Typhosa (*Amer. Journ. Pub. Health.*, 1937, t. 27, p. 351).
- WEINSTEIN (J.). — Extracts of antibodies obtained from specific precipitates of Typhoïd, antityphoïd serum complet. (*J. of Immunol.*, 1918, janv., t. 3, p. 17-33).
- WHITE (P. B.). — Further studies of the Salmonella Group. (*Publ. of Med. Reas. Council*, 1926).
- Notes on intestinal bacillii with special references to smooth and Rough-Races 1929 (*Journ. of Path. and Bact.*, t. 32, p. 85).

WIDAL. — Etude sur les vaccinations mixtes anti-typhiques et anti-paratyphiques (*Bull. Acad. Méd.*, 1915, t. 24, p. 74).

WIDAL et DIGUE. — Etude sur le début de la fièvre typhoïde (séro-réaction, diazo-réaction, hémoculture) dans deux cas de contagion hospitalière (*Soc. Méd. Hôp.*, 9 nov., 1906).

WIDAL (F.) et NOBECOURT. — Dissociation de la propriété immunisante et de la propriété agglutinante (*C. R. S. B.*, 1897, t. 49, p. 842).

WIDAL (F.) et SICARD. — La réaction agglutinante comparée chez les typhiques pendant l'infection et pendant l'immunité (*C. R. S. B.*, 1896, t. 48, p. 1073).

— Différenciation du bacille typhique et du bacille de la psittacose par la réaction agglutinante. Des règles à suivre pour la différenciation des microbes de race voisine par l'action des sérums (*C. R. Soc. Biol.*, 1896, t. 48, p. 991).

— Séro-diagnostic par le sang desséché au point de vue de la Médecine légale et de l'hygiène publique (*C. R. Soc. Biol.*, 9 janvier 1897).

— La mensuration du pouvoir agglutinatif chez les typhiques (*ibid.*, 1897, t. 49, p. 116).

— Recherches comparatives sur le phénomène de l'agglutination en culture filtrée et en culture bacillaire (*ibid.*, 1898, t. 50, p. 412).

— Recherche de la réaction agglutinante dans le sang et le sérum desséché des typhiques et dans la sérosité des vésicatoires (*Soc. Méd. Hôp.*, 31 juillet 1896).

— Recherches sur les propriétés agglutinatives et bactéricides du sérum des convalescents de fièvre typhoïde (*Soc. Méd.*, 1896, t. 13, p. 683).

- Différenciation du B. typhique et du B. de la psittacose par la réaction agglutinante. Des règles à suivre pour la différenciation des microbes de races voisines par l'action des sérums (*Presse Méd.*, 1896, p. 645).
 - Sur la réaction agglutinante chez les typhiques comparés pendant l'infection et pendant l'immunité (*Presse Méd.*, 25 décembre 1890).
 - Recherches sur la nature de la substance agglutinante (*Acad. de Méd.*, 29 septembre 1896).
 - Etude sur le séro-diagnostic et sur les réactions agglutinantes chez les typhiques (*Ann. Inst. Pasteur*, t. 11, p. 355).
- YAMAGUSCHIN. — Verschiedene agglutinatorische Unterschiede bei Paratyphus B Bazillen (*Zeitschr. f. Immunitätsf.*, 1935, t. 85, p. 55).
- Agglutinatorische verschiedenheit der Paratyphus Bazillen typhus und gartnerseren gegenüber (*ibid.*, 1935, t. 86, p. 974).

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
CHAPITRE PREMIER. — SERO-DIAGNOSTIC DE WIDAL	5
— SÉRO-AGGLUTINATION MICROSCOPIQUE	5
— SÉRO-AGGLUTINATION MACROSCOPIQUE	6
— ELIMINATION DES COAGGLUTINATIONS	7
— CAUSES D'ERREUR	8
— INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS	8
CHAPITRE DEUXIÈME. — DISSOCIATION DES ANTIGÈNES DES BACILLES DU GROUPE TYPHO-PARATYPHIQUE	9
— GÉNÉRALITÉS	9
— CARACTÈRE DES SOUCHES « R » ET « S » DES BACILLES DU GROUPE TYPHO-PARATYPHIQUE	13
<i>Caractères morphologiques</i>	13
<i>Caractères biologiques</i>	14
— ANTIGÈNES « O », « H » ET « VI »	19
<i>Définitions</i>	19
<i>Antigène « O »</i>	20
Caractères généraux	20
Propriétés immunologiques	22
Constitution chimique	25
Antigène glucido-lipidique	28
<i>Antigène « H »</i>	37
Caractères de l'agglutination « H »	38
Action de la chaleur et des antiseptiques	39
Propriétés biologiques	40
Spécificité	41
Constitution chimique	43
<i>Antigène « Vi »</i>	44

Historique	44
Définition	45
Classification des souches en fonction de l'antigène « Vi »	46
Conservation et entretien des souches	47
Propriétés biologiques	49
Nature chimique	50
Propriétés biologiques de l'antigène glucido-lipidique « Vi »	51
Propriétés physiques de l'antigène glucido-lipidique « Vi »	53
CHAPITRE TROISIEME. — TECHNIQUE DU SERO-DIAGNOSTIC ANTIGENIQUE DES AFFECTIONS TYPHO-PARATYPHIQUES	
— PRÉPARATION ET STANDARDISATION DES ÉMULSIONS.	55
<i>Souches</i>	56
<i>Préparation des émulsions</i>	58
Emulsion destinée à l'agglutination « H »	58
Emulsions destinées à l'agglutination « O »	62
Emulsions destinées à l'agglutination « Vi »	64
<i>Technique du séro-diagnostic qualitatif</i>	67
CHAPITRE QUATRIEME. — CONSIDERATIONS CRITIQUES SUR L'IMPORTANCE PRATIQUE DE LA DISSOCIATION DES ANTIGENES DES BACILLES DU GROUPE TYPHO-PARATYPHIQUE	
— GÉNÉRALITÉS	71
— ETUDE COMPARATIVE DES DIFFÉRENTS PROCÉDÉS DE SÉRO-DIAGNOSTIC	73
<i>Technique</i>	74
Technique du séro-diagnostic de Widal	74
Technique du séro-diagnostic antigénique	79
Technique du précipito-diagnostic	80
— RÉSULTATS	82
<i>Etude comparative de sérums expérimentaux</i>	82
<i>Standardisation des sérums expérimentaux</i>	82
<i>Identification sérologique portant sur 14 souches</i>	84

<i>Etude de 56 séro-diagnostics de fièvres typhoïdes et paratyphoïdes</i>	89
<i>Précipito-diagnostics</i>	93
— DISCUSSION DE LA VALEUR PRATIQUE DES DISSOCIATIONS ANTIGÉNIQUES	97
<i>Considérations sur la spécificité des différents antigènes des bacilles du groupe typho-paratyphique</i>	97
<i>Dissociation antigénique et valeur immunisante . .</i>	100
<i>Dissociation antigénique et séro-diagnostic de la fièvre typhoïde</i>	104
Le séro-diagnostic qualitatif donne-t-il des résultats plus précis que le séro-diagnostic classique de Widal	106
Antigène « Vi » et séro-diagnostic de Widal . .	107
Séro-diagnostic « Vi » au cours de la typhoïde des vaccinés	108
Agglutination « Vi » chez les porteurs de germes	111
CONCLUSIONS	113
BIBLIOGRAPHIE	117



IMPRIMERIE SPECIALE
DE LA LIBRAIRIE
LOUIS ARNETTE



